UNIVERSITE DE PARIS — FACULTE DE PHARMACIE

Année scolaire 1965-1966 — Série U - N° 428

THESE

présentée à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Paris
pour l'obtention du titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Pharmacie)

par

Lise DRAY
Pharmacien
Attachée de Biologie des Hôpitaux de Paris

Soutenue le 23 juin 1966, devant la commission d'examen

Recherches sur le plasminogène : mise au point d'une nouvelle méthode de dosage et application à l'étude des cirrhoses hépatiques

JURY

MM. M. PIETTE, Président
P. DELAVEAU, Examinateur
J. BORY, Examinateur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, RUE DEPARCIEUX, 29
PARIS — 1966

UNIVERSITE DE PARIS — FACULTE DE PHARMACIE

Année scolaire 1965-1966 — Série U - N° 428

THESE

présentée à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Paris
pour l'obtention du titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Pharmacie)

par

Lise DRAY
Pharmacien
Attachée de Biologie des Hôpitaux de Paris

Soutenue le 23 juin 1966, devant la commission d'examen

Recherches sur le plasminogène : mise au point d'une nouvelle méthode de dosage et application à l'étude des cirrhoses hépatiques

JURY

MM. M. PIETTE, Président
P. DELAVEAU, Examinateur
J. BORY, Examinateur

UNIV. LEIDEN BIBL.

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, RUE DEPARCIEUX, 29
PARIS — 1966

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

VALETTE (G.), O. ✲	*Doyen*
JANOT (M.M.), O. ✲	*Assesseur*
RAOUL (Y.), ✲	*Assesseur*
RODINEAU (L.), ✲	*Secrétaire Général*
FERRARI (Mme S.)	*Attachée Principale*
JEANDEL (L.)	*Attaché*
ESPINASSE (Mme M.-L.)	*Attachée*
PEILLON (Mme C.)	*Attachée*
BRENN (A.), ✲	*Attaché*
JACOB (A.), ✲	*Attaché*

DOYEN HONORAIRE

FABRE (R.), C. ✲	Membre de l'Institut

PROFESSEURS HONORAIRES

LAUNOY (L.), O. ✲	
FLEURY (P.), O. ✲	
PICON (M.), O. ✲	
BEDEL (C.), ✲	
FABRE (R.), C. ✲	Membre de l'Institut

PROFESSEURS

JANOT (M.-M.), O. ✲	Pharmacie galénique (T.)
VALETTE (G.), O. ✲	Pharmacodynamie (T.)
PARIS (R.), ✲	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T.)
GUILLOT (M.), ✲	Physique (T.)
GAUTIER (J.-A.), ✲	Chimie organique (T.)
LAMBIN (Mlle S.), ✲	Microbiologie (T.)
RAOUL (Y.), ✲	Physiologie (T.)
COURTOIS (J.), ✲	Chimie biologique (T.)
DOMANGE (L.), O. ✲	Chimie générale et minérale (T.)
TRUHAUT (R.), O. ✲	Toxicologie et Hygiène industrielle (T.)
MORETTE (A.), ✲	Hydrologie (T.)
CAVIER (R.)	Parasitologie (T.)
QUEVAUVILLER (A.), ✲	Hygiène et Education sanitaire (T.)
MOREAU (R.), ✲	Pharmacie chimique (T.)
GERMAN (A.)	Virologie et Sérologie (T.)
PIETTE (M.), ✲	Biologie sanguine (T.)
MALANGEAU (P.)	Chimie analytique (T.)
GIRARD (M.), ✲	Biochimie appliquée (T.)
DILLEMANN (G.)	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T.)
DEYSSON (G.)	Botanique (T.)
FLAHAUT (J.)	Minéralogie (T.)

RENAULT (J.)	Chimie organique (T.)
LE HIR (A.)	Pharmacie galénique
BOUDENE (C.)	Toxicologie et Hygiène industrielle (T.)
LARUELLE (P.)	Physique
ROSSIGNOL (P.)	Pharmacodynamie
MANGEOT (A.)	Pharmacie galénique industrielle
DELAVEAU (P.)	Matière médicale
COHEN (Y.)	Sciences naturelles (Pharmacodynamie)
RENAULT (H.)	Physique
BOURDON (R.)	Chimie analytique
REYNAUD (P.)	Pharmacie chimique

MAITRES DE CONFERENCES

LE MOAN (G.)	Toxicologie
PAOLETTI (C.)	Toxicologie
POISSON (J.)	Pharmacie galénique
DESVIGNES (A.)	Cryptogamie et technique bactériologique
PERCHERON (F.)	Chimie biologique
SAVEL (J.)	Biologie animale
BORY (M.)	Microbiologie
MIOCQUE (M.)	Chimie organique
GUIGNARD (J.-L.)	Botanique générale
GOUNELLE (J.-C.)	Physiologie
BINET (P.)	Biologie animale
COMBET-FARNOUX (C.)	Chimie organique
PLAT (Mme M.)	Législation et Déontologie pharmaceutique
DELACOUX (E.)	Pharmacie chimique
ADOLPHE (C.)	Physique
DIDRY (J.)	Mathématiques appliquées aux sciences expérimentales
GUERNET (M.)	Chimie analytique
KHODADAD (P.)	Chimie minérale
LEDOUBLE (G.)	Chimie minérale

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

ASTIN (C.), F.F.	Physique
AYMARD (P.), F.F.	C.E.S. Analyse appliquée au contrôle des médicaments (section biologie)
BLANC (Mme J.)	Chimie organique
BONNET (C.), F.F.	Mathématiques
BOURNIQUE (Mlle C.), F.F.	Physiologie végétale
CARLIER (A.), F.F.	C.E.S. Pharmacie galénique industrielle
CENAC (Mme J.), F.F.	C.E.S. Parasitologie pharmaceutique et technique
CHARPENTIER (Mme M.)	Chimie (préparation)
CHARLES (J.), F.F.	Mathématiques
CHOIX (Mlle M.)	Pharmacie galénique
DAGRON (C.)	Chimie organique
COMPAGNON (P.), F.F.	Chimie organique
DECAUDIN (Mlle M.-T.)	Parasitologie
DREUX (C.)	C.E.S. Electrochimie appliquée à l'analyse
DUMANT (G.), F.F.	Chimie (préparation)
ETIENNE (J.), F.F.	Physique
FLEURY (Mlle S.)	Chimie
GESTEAU (P.), ✲	C.E.S. de biochimie
GOURSAT (Mlle M.J.), F.F.	Botanique
GUERIN (H.), ✲	Essais des drogues végétales
HAMON (M.)	Chimie analytique

HARISPE (Mme M.)	Chimie organique
HARISPE (J.), ✲	Chimie organique
HAZEBROUCQ (G.)	Physique
HENRY (J.)	Chimie
HUBERT (Mme J.)	C.E.S. Bactériologie pharmaceutique et technique
HURON (Mme M.J.), F.F.	Mathématiques
JUND (Mlle Y.)	C.E.S. Immunologie
LAROCHE (J.)	Physique
LEGER (Mme N.), F.F.	Zoologie
LELUC (R.)	Microbiologie
LEMONNIER (A.)	Chimie analytique
LONGEVIALLE (Mlle M.), F.F.	Botanique
LONGUEVALLE (Mlle S.)	Chimie analyses
MANDEREAU (J.), F.F.	C.E.S. Pharmacotechnie chimique et galénique
MARTIN-FRERE (H.)	Chimie organique
MORIN (Mlle H.)	C.E.S. Pharmacodynamie et essais biologiques des médicaments
MOSKOWITZ (H.)	Chimie organique
NOTTEGHEM (Mme M.), F.F.	Zoologie
NGUYEN PHU LICH, F.F.	C.E.S. Toxicologie et études sanitaires
PERLES (R.)	C.E.S. Biochimie
PESTIS (J.), F.F.	Biologie animale
PINGUET (Mlle A.), F.F.	C.E.S. analyse appliquée au contrôle des médicaments (section physico-chimie)
POULLAIN (P.)	C.E.S. Hématologie
POUSSET (J.-L.), F.F.	C.E.S. Pharmacotechnie chimique et galénique
PRAT (Mme M.-T.), F.F.	Mathématiques
RAYNAUD (G.)	Anatomie et histologie
RIVET (J.)	Physique
ROLLEN (Mlle A.), ✲	Botanique
ROBERT (Mme M.)	C.E.S. Immunologie générale et appliquée
SEILLER (Mme M.), F.F.	Pharmacie galénique industrielle
THUONG CONG TRIEU, F.F.	Chimie analytique
YONGER (J.)	Chimie analytique

BIBLIOTHEQUE

RUYSSEN (Mlle Y.), ✲	Conservateur, chargé de la Direction
LAVAUD (Mlle S.), ✲	Conservateur
KREHMER (Mme G.)	Conservateur
DESGRIPPES (Mme A.)	Bibliothécaire

A MES PARENTS

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

A Monsieur le Professeur M. PIETTE

Chevalier de la Légion d'Honneur

En témoignage de notre profonde et respectueuse gratitude pour avoir bien voulu s'intéresser à cette thèse et pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence du jury.

A Monsieur le Professeur P. DELAVEAU

Qui a bien voulu faire partie de notre jury de thèse.

Qu'il reçoive l'expression de notre vive reconnaissance.

A Monsieur le Professeur J. BORY

Qui a bien voulu accepter de juger notre travail.

En témoignage de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur G. MARCHAL

Qui a bien voulu nous accueillir dans son service pour effectuer les recherches nécessaires à la réalisation de ce travail, et nous a fait bénéficier de son haut enseignement.

A Monsieur M. SAMAMA

Qui nous a ouvert la porte de son savoir et qui a guidé nos premiers pas en hématologie.

Qu'il veuille bien recevoir l'expression de notre reconnaissance.

A Monsieur E. VAIREL

Qui nous a si aimablement et utilement éclairée.

Qu'il trouve ici la marque de notre gratitude.

A Monsieur le Professeur M. LECLERC

A Monsieur le Professeur F. POILLEUX

Qui nous ont si aimablement encouragée et soutenue.

Qu'ils veuillent bien accepter l'expression de notre respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Docteur M. WEISS

Dont les précieux conseils ont facilité nos recherches bibliographiques.

Qu'il en soit vivement remercié.

AUX LABORATOIRES CHOAY

Qui ont bien voulu mettre à notre disposition les réactifs nécessaires à nos recherches de laboratoire et leur importante bibliothèque, contribuant ainsi grandement à la réalisation de cette thèse.

Qu'ils en soient remerciés.

RAPPEL DE LA PHYSIOPATHOLOGIE DE LA FIBRINOLYSE ET DE SON EXPLORATION

INTRODUCTION

La « fibrinolyse » est un processus physiologique qui conduit à la dissolution du caillot formé lors de la coagulation du sang.

Ces deux systèmes successifs, « la coagulation » d'une part, « la fibrinolyse » d'autre part, contribuent à maintenir un équilibre dans le sang circulant, équilibre dont on parle souvent sous les termes de « balance hémostatique », « thrombolytique », « fibrinolytique ».

De nombreux phénomènes pathologiques peuvent rompre cet équilibre : ils déterminent, suivant le sens de la perturbation, des phénomènes de fibrinolyse ou de thrombose.

L'incoagulabilité du sang de sujets victimes d'une mort violente, est un phénomène observé depuis la fin du XVIII[e] siècle. En 1893, DASTRE crée le terme de « fibrinolyse » et c'est MORAWITZ qui, en 1906, a démontré que cette incoagulabilité était liée à la disparition du fibrinogène par un processus de lyse.

En 1937, MACFARLANE trouve une activité fibrinolytique dans le plasma de patients ayant subi une intervention chirurgicale, puis montre avec PILLING (1947), que l'exercice physique ou l'injection d'adrénaline exaltent chez les sujets sains, une activité fibrinolytique naturelle, spontanée.

Mais c'est vers 1950 que les premières observations d'accidents hémorragiques cataclysmiques avec redissolution très rapide des caillots sanguins ont ouvert la voie à l'étude de ces syndromes.

Il est intéressant de constater avec KOLLER [82], l'analogie frappante qui existe entre le mécanisme de la coagulation et celui de la fibrinolyse. Chacun d'eux utilise deux voies d'activation distinctes, l'une tissulaire, l'autre sanguine.

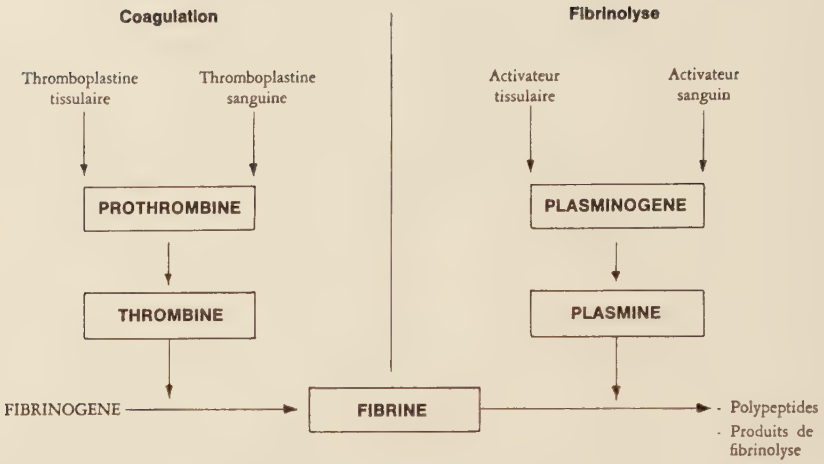


Schéma d'après KOLLER [82]

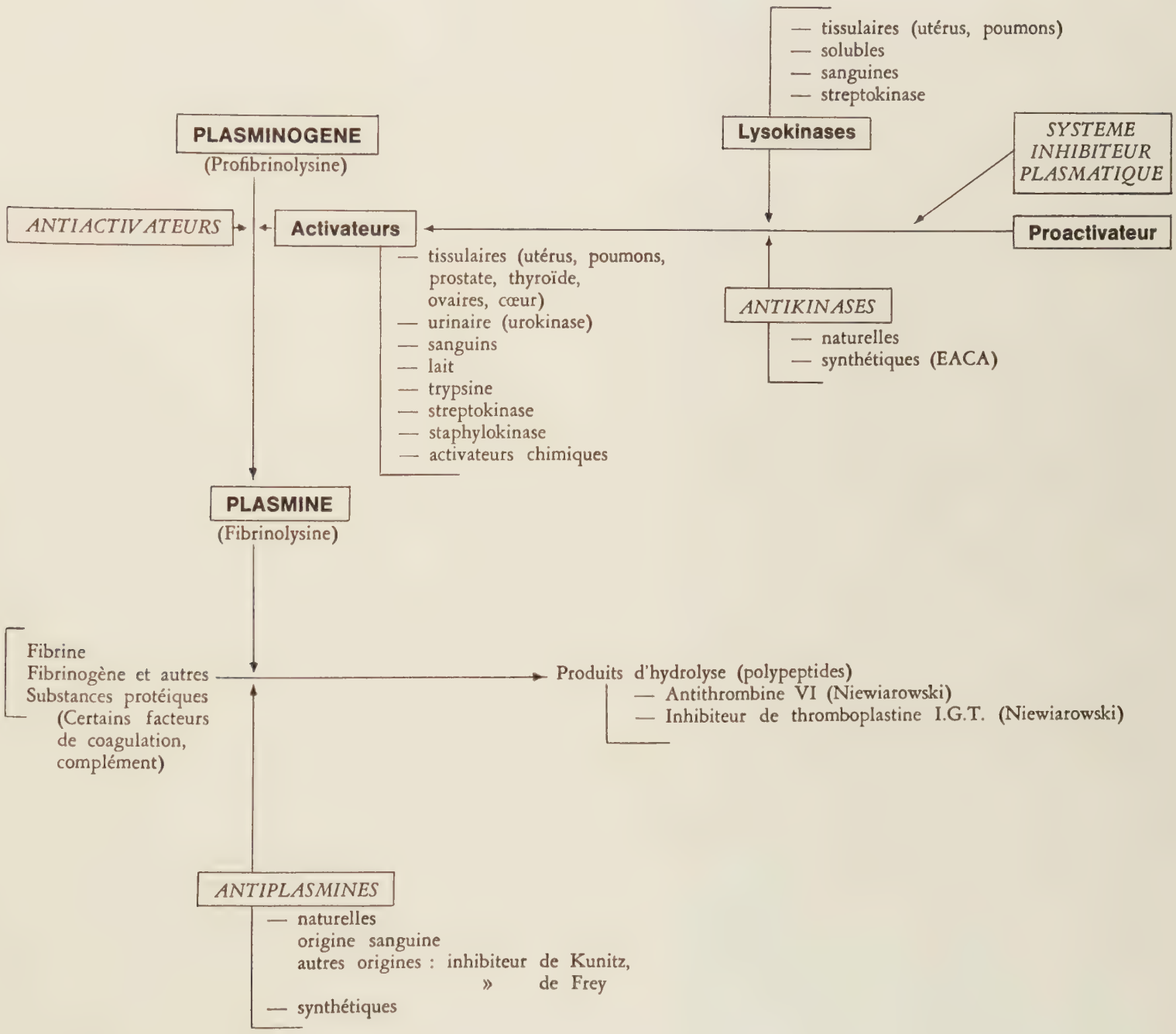
Il existe dans le plasma un précurseur inactif, le plasminogène, qui, transformé en plasmine par les activateurs, lysera le caillot de fibrine (fibrinolyse). Mais la plasmine a aussi le pouvoir de détruire le fibrinogène (fibrinogénolyse), ainsi que bon nombre d'autres protéines. La plasmine est une protéase non spécifique quant à son substrat.

Lorsque le plasminogène est transformé en plasmine à l'intérieur d'un caillot sanguin par diffusion d'activateurs d'origine exogène à travers les fibres de fibrine, il s'agit de thrombolyse.

A ce processus général de fibrinolyse correspond un système inhibiteur parallèle qui intervient à chaque stade de la transformation du plasminogène en plasmine et qui contribue à maintenir l'équilibre de ce mécanisme.

Le schéma ci-après, inspiré de celui d'ASTRUP [13], représente le système fibrinolytique selon l'état actuel de nos connaissances et des hypothèses formulées sur les processus de la fibrinolyse et de son inhibition.

SCHEMA DE LA FIBRINOLYSE



CHAPITRE I

LE PLASMINOGENE

I. — PRINCIPALES PROPRIÉTÉS

1) Le plasminogène ou profibrinolysine est une protéine plasmatique synthétisée par le foie.

Dans la méthode de fractionnement du plasma selon COHN, il se retrouve dans la fraction III [38]. Cette fraction est généralement utilisée comme matière première pour sa préparation.

Il n'a pu être préparé à l'état absolument pur ; cependant, un certain nombre de ses propriétés physico-chimiques ont été étudiées.

Le plasminogène a été identifié comme une β globuline (ROBBINS et SUMMARIA [124]).

2) Le plasminogène est :
- très soluble au-dessous de pH = 5 et au-dessus de pH = 9 [108] ;
- difficilement soluble aux pH intermédiaires ;
- la lysine augmente sa solubilité aux pH voisins de la neutralité.

3) Il est :
- instable à pH = 9 ;
- stabilisé par une solution à 50 % de glycérol [3] et à pH = 7,0 ;
- inactivé à une température supérieure à 70°C.

4) Il peut être purifié par chromatographie sur carboxyméthylcellulose [63] ainsi que par filtration sur gel sephadex [124].

II. — PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DU PLASMINOGÈNE PURIFIÉ

Suivant les auteurs, le poids moléculaire du plasminogène serait compris entre 143.000 (SHULMAN et coll. [138]) et 83.000 d'après DAVIES et ENGLERT [42], qui énumèrent d'autre part les propriétés suivantes :

— Constante de sédimentation	4,3 S
— Constante de diffusion.	$4{,}31 \times 10^{-7}$ cm^2 sec^{-1}
— Volume spécifique partiel	0,71 cm^2 g^{-1}
— Viscosité intrinsèque .	0,08
— Mobilité électrophorétique	à pH = 2,9 + 6,6 cm^2 V^{-1} sec^{-1} à pH = 4,95 + 2,0 cm^2 V^{-1} sec^{-1}
— Point isoélectrique ...	pH = 5,5-6,0

Cette préparation contient 5 à 10 % d'impuretés.

La préparation obtenue par une méthode décrite par KLINE [79] contient 20 à 30 % d'impuretés.

III. — PROPRIÉTÉS CHIMIQUES

Bien qu'il s'agisse de préparations impures, certains auteurs [138] ont cru pouvoir déterminer que le plasminogène préparé par la méthode de KLINE [79] contiendrait :

— 5,91 % de tyrosine ;

— 3,78 % de tryptophane ;
le rapport tyrosine/tryptophane = 1,56 ;

— 15,8 % d'azote ;

— 0,19 % de phosphore, soit 8,8 atomes de phosphore par molécule ;

— 0,98 % d'hexoses.

IV. — ROLE DU PLASMINOGÈNE

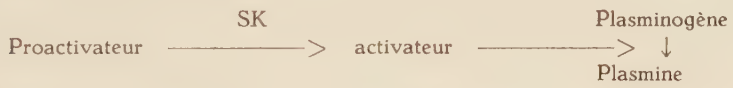
Sous l'action des activateurs, le plasminogène est transformé en plasmine. Cette hydrolyse scinde la molécule en deux : un polypeptide inactif et une molécule de plasmine, qui est l'enzyme actif.

Dans le sang circulant, une activité fibrinolytique anormale peut être rencontrée dans diverses conditions pathologiques lorsque le plasminogène est transformé en plasmine par les activateurs tissulaires ou sanguins.

Les activateurs du plasminogène [117] sont des enzymes protéolytiques qui attaquent les liaisons amides ou esters ; l'activation peut être inhibée par les esters de l'arginine ou de la lysine, qui sont des substrats pour ces activateurs.

Le mode d'action de la streptokinase donne encore lieu à de nombreuses discussions : on peut cependant noter que son action sur le plasminogène est inhibée par les esters de la lysine ou de l'arginine.

L'activation du plasminogène par la streptokinase (SK) nécessite la présence d'un proactivateur, selon le schéma [105] :



Le proactivateur et le plasminogène ont la même mobilité électrophorétique.

Pour certains auteurs, le proactivateur et le plasminogène ne font qu'un, mais tous ne sont pas d'accord sur ce point. D'autre part, l'existence du proactivateur des plaquettes, qui ne contient pas de plasminogène, a été démontrée [59, 60]. De plus, l'on peut mettre en évidence dans l'urine (absence de plasminogène) la présence d'un proactivateur dont la concentration augmente après un stress physique, ce phénomène s'accompagnant d'une diminution du taux sanguin de proactivateur [77].

L'activation du plasminogène par un activateur direct tel que l'urokinase est en tous points comparable à celle du trypsinogène par l'entérokinase, phénomène étudié et connu depuis longtemps.

Il n'est pas établi avec certitude que la plasmine soit capable d'activer le plasminogène, alors que le trypsinogène peut être activé très rapidement par la trypsine.

Le plasminogène se retrouve dans le plasma et le sérum et précipite avec les euglobulines.

Sgouris et coll. [135] trouvent une moyenne de 0,63 unité caséinolytique de plasminogène dans le plasma et 2,58 unités dans les euglobulines. Cette différence est expliquée par le fait que le plasma contient des inhibiteurs dont sont exemptes les euglobulines.

Pour Norman [115], 99 % du plasminogène se retrouveraient dans les euglobulines.

Selon Blix [24], les antistreptokinases n'existent pas dans les euglobulines. D'autre part, le plasminogène serait présent dans les exsudats et les transsudats.

Pour Lewis et coll. [90], le plasminogène se retrouverait dans les γ globulines avec le fibrinogène, le « plasma thromboplastin antecedent » ou P.T.A. (facteur XI) et le facteur Hageman (facteur XII).

Pour Christensen [35], il y aurait une relation entre les taux de fibrinogène et de plasminogène.

Barnhart et Riddle [18] ont localisé le plasminogène à l'intérieur des granulations des cellules éosinophiles de la moelle osseuse en utilisant un sérum antiplasminogène fluorescent hautement spécifique. Le taux de plasminogène augmente avec la maturation des éosinophiles et atteint son maximum dans les cellules mûres. Selon ces auteurs, le plasminogène serait transporté par les éosinophiles à partir de la moelle, puis libéré dans la circulation et les tissus au moment du besoin.

CHAPITRE II

LA PLASMINE

I. — PRINCIPALES PROPRIÉTÉS

• *La plasmine ou fibrinolysine est une protéase née de l'action d'un activateur sur le plasminogène.* Cette transformation éliminant un polypeptide, la molécule de plasmine est donc plus petite que celle du plasminogène (FLETCHER et coll. [52]).

Cette protéase agit sur un grand nombre de protéines, parmi lesquelles certains facteurs plasmatiques :

— la fibrine ;
— le fibrinogène ;
— les facteurs V, VIII (proaccélérine et facteur anti-hémophilique A);
— certains facteurs spécifiques du complément.

Son activité a également été signalée sur :

— l'hormone de croissance ;
— le glucagon [100];
— la gélatine ;
— la caséine ;
— la β-lactoglobuline ;
— la bradykinine ;
— certains esters synthétiques de la lysine et de l'arginine [149] (p tosyl L arginine methyl ester (TAMe), benzoylarginine methyl ester (BAMe), lysine ethyl et methyl esters (LEe et LMe) et acetyltyrosine ethyl ester)* (activité estérasique).

La fibrine est plus rapidement dégradée que le fibrinogène *in vivo* et *in vitro*. Les antiplasmines neutralisent rapidement l'action de la plasmine libre dans le plasma. Au contraire, il semblerait que dans un

(*) Nous avons conservé pour les substances du même genre la dénomination anglaise qui est très courante.

caillot, la fibrine adsorbe de grandes quantités de plasminogène et non les inhibiteurs de la fibrinolyse. De plus, la fibrine pourrait éventuellement dissocier les complexes plasmine-antiplasmine et libérer la plasmine au contact du substrat. Ce point de vue n'est cependant pas unanimement admis.

• *Plusieurs unités d'activité de plasmine ont été décrites.* Certains essais utilisent la fibrine comme substrat :

— l'unité Loomis [91] de plasmine est la quantité de plasmine qui lyse 1,1 mg de fibrine par minute ;
— l'unité Christensen [34] est le 1/30e de l'unité Loomis ;
— l'unité Alkjaesig [4] est le 1/20e de l'unité Loomis.

Pour d'autres, le substrat utilisé est la caséine :

— l'unité Kunitz [87] libère 150 µg de tyrosine en une minute ;
— l'unité Remmert et Cohen [123] libère 450 µg de tyrosine en 60 minutes ; elle correspond au 1/20e de l'unité Kunitz ;
— l'unité Alkjaersig et Fletcher [5] libère 180 µg de tyrosine en 60 minutes ; elle correspond au 1/50e de l'unité Kunitz.

Un des principaux reproches adressés à ces méthodes caséinolytiques est la composition inconstante du substrat qui doit subir un certain nombre d'altérations pour être soluble dans les conditions de l'essai.

La comparaison des courbes en fonction du temps de l'hydrolyse de la caséine et du fibrinogène montre que l'on peut obtenir après 30 minutes d'incubation les mêmes valeurs pour ces deux substrats [95].

• *Solubilité de la plasmine :*

Comme le plasminogène, la plasmine est :

— très soluble au-dessous de pH = 5 et au-dessus de pH = 9 ;
— difficilement soluble aux pH intermédiaires.

La lysine augmente sa solubilité aux pH neutres.

• *pH d'activité optimale* [108] :

Le maximum d'activité de la plasmine sur la caséine se situe entre pH 7,5 et 8,3.

• *Stabilité* [108] :

La plasmine humaine est stable :

— entre pH = 6 et pH = 8 (alors que la plasmine bovine est très labile à ces pH);

— à pH = 1,8 et à 100°C ;
— 20 minutes à 37°C en présence de caséine (de même que la plasmine bovine) ;
— entre pH = 7 et pH = 7,4, où elle atteint son maximum de stabilité. Celle-ci augmente par chauffage et action du chloroforme ou de caséine ou d'acides aminés basiques estérifiés.

II. — PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

Le poids moléculaire de la plasmine varie de 108.000 à 127.000 selon l'activateur utilisé [158].

Le poids moléculaire de la streptokinase étant de 50.000 et celui du plasminogène de 83.000 (Davies et Englert [42]), on pourrait penser [158] que tout se passe comme si la molécule de streptokinase se fixait sur le plasminogène pour former de la plasmine, mais cette hypothèse est en désaccord avec le fait que certains auteurs ont observé la présence de peptides perchlorosolubles après l'activation du plasminogène par la streptokinase.

D'autre part, ces études ont été faites avec des préparations impures de plasminogène.

Pour Shulman et coll. [138], le poids moléculaire de la plasmine autoactivée serait 108.000, soit 76 % du poids moléculaire du plasminogène ;

— activée par la streptokinase = 120.000 ;
— activée par l'urokinase = 127.000.

III. — PROPRIÉTÉS CHIMIQUES

• *Malgré les impuretés que contiennent toutes les préparations de plasmine, certains constituants de cette molécule ont été étudiés* (le plasminogène étant préparé par la méthode de Kline [79]).

D'après Shulman et coll. [138], la plasmine contiendrait :

— 6,32 % de tyrosine ;
— 4,04 % de tryptophane ;
le rapport tyrosine/tryptophane = 1,56 ;
— 14,1 % d'azote ;
— 1,51 % d'hexoses.

En général, on admet que le plasminogène n'a ni activité protéolytique ni activité estérasique mais, après activation par la streptokinase, la plasmine possède les deux activités protéolytique et estératique.

Certains auteurs ont montré que l'allure de la courbe d'activation du plasminogène par la streptokinase fait penser à un phénomène enzymatique. Cependant cette façon de voir est peut-être discutable car si l'on admet que l'action de la streptokinase sur le proactivateur détermine la formation d'un activateur, puis que cet activateur agit à son tour sur le plasminogène pour le transformer en plasmine, la réaction finale qui met en évidence une activité dosable est fondée sur l'action de la plasmine seule.

La réaction finale est donc la résultante de trois activités successives mais qui se superposent dès le début ; à partir du moment où l'une d'elles est cinétique, la résultante l'est. Dans l'état actuel des possibilités d'investigation connues, il est délicat d'affirmer que les trois sont de même type. Certains auteurs semblent penser que l'action de la streptokinase sur le proactivateur serait stoechiométrique, les deux autres cinétiques.

La streptokinase possède une activité estérasique et hydrolyse l'acétate de β-naphtyle.

La plasmine possède une activité estérasique inférieure à celle de la streptokinase.

La plasmine humaine ne catalyse pas la transformation du plasminogène humain ou bovin en plasmine [108].

L'activation spontanée du plasminogène en plasmine a été décrite par Mole [101].

• *Formation de plasmine selon la distribution du plasminogène* [52]:

Le plasminogène est distribué dans les espaces extravasculaires et le plasma. Habituellement, sa concentration est à peu près proportionnelle à la concentration en fibrinogène du liquide dans lequel on le rencontre.

Lorsqu'un caillot se forme, qu'il soit intra ou extravasculaire, les dépôts fibrineux ou le thrombus contiennent des quantités notables de plasminogène, celui-ci étant en relation spatiale intime avec les fibrilles de fibrine.

La nature physico-chimique de cette affinité entre le plasminogène d'une part, et le fibrinogène d'autre part, n'est pas élucidée ; cependant : les caillots ou « thrombi » formés à partir de sangs riches en plasminogène contiennent toujours des concentrations relativement

importantes de plasminogène, et les caillots pauvres en plasminogène adsorbent rapidement le plasminogène lors de leur immersion dans le plasma.

De plus, le fibrinogène, lors de sa purification, n'est complètement séparé du plasminogène qu'en présence d'agents spécifiques de solubilisation de ce dernier.

Le plasminogène existe donc dans un système plasma-caillot à double phase :

— phase soluble = plasminogène dans le plasma ;
— « gel-phase » = plasminogène dans le caillot.

Etant donné cette distribution physique, les conséquences biologiques de l'activation du plasminogène dans les deux phases sont différentes :

1) L'activation dans la phase soluble (lente) ne produit pas d'effet décelable car la plasmine est rapidement inhibée par les antiplasmines plasmatiques.
Cependant, s'il se produit une rapide activation du plasminogène, des substrats adéquats (le fibrinogène en premier lieu) seront détruits, produisant un défaut de coagulation et un risque d'hémorragie.

2) L'activation à l'intérieur du caillot (« gel-phase »).
La fibrine est le substrat principal : il s'agit de thrombolyse car la relation plasminogène - fibrilles de fibrine est relativement indépendante des inhibiteurs, le caillot étant pauvre en inhibiteurs (il adsorbe la streptokinase et le plasminogène et non l'acide epsilon aminocaproïque). La plasmine n'agira qu'en cet endroit.
L'activation par la streptokinase est plus rapide dans la phase soluble.
L'activation par l'urokinase est plus rapide à l'intérieur du caillot.
L'inconvénient de la streptokinase est son antigénicité ; il faut en effet neutraliser les anticorps pour obtenir l'effet lytique.

L'activation du plasminogène *in vivo* dans la thérapeutique thrombolytique :

1) Chez un malade traité par la streptokinase. Dans les premières heures, l'activation prédomine dans la phase soluble, mais l'activité thrombolytique n'augmente pas car le plasminogène est rapidement activé en plasmine, elle-même inhibée par les antiplasmines. Le taux de plasminogène diminue, puis se réduit à des traces ou à néant.

2) Chez un malade traité par l'urokinase, l'activation du plasminogène prédomine dans le caillot, l'activité thrombolytique croît avec seulement une petite diminution du plasminogène plasmatique.

Dans certains états protéolytiques pathologiques, il existe des taux élevés d'activateurs qui provoquent l'activation du plasminogène dans les deux phases.

Dans les traitements par la streptokinase, par exemple, la thrombolyse est fonction de l'activateur du plasminogène localement présent autour du thrombus et c'est l'activation du plasminogène contenu dans le caillot qui produit la thrombolyse.

Selon Niewiarowski et Kowalski [111], le processus de la fibrinolyse s'accompagne de la formation d'antithrombine VI et d'inhibiteur de thromboplastine, ce dernier diminuant le processus de la thromboplastinoformation.

Les produits de protéolyse du fibrinogène n'ont pas d'action inhibitrice sur la thrombine mais inhibent la polymérisation des monomères de fibrine [6], dont la concentration dans le caillot final est parallèle à la sévérité du défaut de coagulation.

Le microscope électronique [17] montre un désordre de morphologie du caillot. Il s'agit donc d'un défaut de polymérisation de la fibrine.

Niewiarowski assimile cet inhibiteur de polymérisation de la fibrine à l'antithrombine VI mais deux autres groupes d'auteurs [83], [148], indiquent que la polymérisation et la thrombine peuvent être également inhibées. Il apparaît donc que le terme d'antithrombine VI pour désigner les produits de protéolyse du fibrinogène n'est pas satisfaisant.

IV. — ROLE DE LA PLASMINE

Selon Macfarlane et Biggs [93], la plasmine interviendrait dans divers processus tels que la digestion des dépôts pathologiques de fibrine et la dégradation de protéines sériques.

Selon Christensen [33], le traitement par le chloroforme enlèverait l'inhibiteur de la plasmine qui serait présent dans le sérum. Après cette extraction, le plasminogène se transformerait autocatalytiquement en plasmine.

Il existe dans les tissus des quantités variables d'un activateur, la fibrinokinase, et l'on peut penser que dans les sérums pathologiques le plasminogène serait activé par cette fibrinokinase, libérée par le tissu nécrosé.

Peut-être, existe-t-il des enzymes provenant du tissu conjonctif et attaquant aussi les protéines sériques.

• *Combinaison streptokinase-plasmine* [117] :

La streptokinase est capable d'une inhibition compétitive de l'activité protéolytique de la plasmine, de sorte que, en présence de fortes concentrations de streptokinase, la plasmine peut être inhibée de plus de 50 %.

Cette combinaison streptokinase-plasmine est apparemment réversible car, à pH = 2, la streptokinase est dénaturée et l'activité de la plasmine complètement restaurée.

La combinaison streptokinase-plasmine accélère le pouvoir de la plasmine d'activer le plasminogène mais ralentit celui de digérer d'autres protéines.

CHAPITRE III

L'ACTIVATION DU PLASMINOGENE

I. — LES ACTIVATEURS

Divers activateurs peuvent intervenir pour transformer le plasminogène en plasmine.

1) Activateurs tissulaires

Les activateurs sont insolubles dans le soluté physiologique salin mais peuvent être extraits d'une grande variété de tissus [11], à l'aide d'une solution de thiocyanate de potassium.

L'activateur tissulaire est :

— abondant dans l'utérus, l'ovaire, les surrénales, la prostate, la thyroïde, les poumons, le muscle cardiaque [1];

— présent dans le tissu conjonctif envahissant le parenchyme hépatique en cas de cirrhose (ASTRUP et coll. [14]);

— présent dans les parois vasculaires, au niveau de l'adventice (TODD, [144, 145]);

— absent dans le foie.

Deux sortes d'activateurs semblent être présents : un thermolabile et un thermostable [94]. Cette activité est apparemment associée à la fraction correspondant aux microsomes de la pulpe des préparations tissulaires centrifugées (TAGNON et PETERMAN [142]), alors que les inhibiteurs de fibrinolyse que l'on a pu aussi mettre en évidence dans des extraits tissulaires se retrouvent dans le surnageant.

2) Activateur sanguin

— Il en existe de faibles quantités dans le sang humain normal [48], qui contient surtout une quantité importante de pro-activateur.

— son taux augmente par action des électrochocs, par le pyrexal, l'acide nicotinique, tout stress en général.
— il est retrouvé dans le lait, les larmes, la salive [2], les secrétions séminales, le plasma, divers exsudats (liquide d'ascite, liquide amniotique et liquide cérébrospinal) [2], adsorbé par la fibrine pendant la coagulation ;
— il se retrouve en partie dans le précipité des euglobulines plasmatiques ;
— dans le sang total, il est très labile [50].

3) Urokinase

C'est une protéine présente dans l'urine des mammifères, qui catalyse la transformation directe du plasminogène en plasmine. Son origine est obscure : peut-être est-elle synthétisée par le parenchyme rénal et les voies urinaires, ou bien s'agit-il du produit d'excrétion de l'activateur sanguin pouvant lui-même provenir de l'activateur tissulaire passé dans le sang circulant.

Selon Prokopowicz et coll. [121], l'urokinase serait sécrétée par les cellules juxta-glomérulaires.

L'urokinase isolée de l'urine humaine par adsorption sur gel de silice [119] est formée de trois composants principaux à l'électrophorèse. Les préparations impures d'urokinase hydrolysent :
— la caséine ;
— l'α N toluene sulfonyl methyl ester ;
— l'α N benzoyl L arginine methyl ester ;
— la L lysine ethyl ester.

Elles se comportent donc comme un enzyme protéolytique, mais MacFarlane et Pilling [92] ont montré que l'urine contenait aussi de la plasmine, d'ou la contamination possible de ces préparations.

De plus en plus, les activités tant protéolytiques qu'estérasiques de l'urokinase sont mises en doute. En effet, il semble bien que ces propriétés disparaissent au fur et à mesure de la purification de cet activateur, l'activité sur le plasminogène subsistant seule.

4) Erythrokinase [70]

C'est un activateur du type de l'urokinase, contenu dans les globules rouges (teneur très faible).

5) Trypsine

Elle aurait peut-être un rôle dans les fibrinolyses compliquant les affections pancréatiques.

L'activation du plasminogène par la trypsine en présence de 50 % de glycérol est du même ordre que celle due à la plasmine.

6) Facteur Hageman [52]

Il aurait un rôle indirect sur l'activation du plasminogène.

Le contact avec une surface mouillable causerait l'activation du plasminogène. Celle-ci serait donc due à l'activation du facteur HAGEMAN (IATRIDIS et FERGUSON [67]).

7) Autres activateurs d'origine exogène

a) CHLOROFORME :

Le chloroforme active *in vitro* le plasminogène mais il le dénature (MACFARLANE [94]). TAGNON considère que le sérum contient un « ferment digestif » (sur caséine ou gélatine) et un inhibiteur qui, normalement en excès, se trouve détruit par le chloroforme. Le chloroforme détruit aussi l'antitrypsine du sérum, qui serait le même agent que l'inhibiteur de fibrinolyse et de protéolyse du sérum normal.

b) DÉRIVÉS DE L'URÉE :

Des dérivés de l'urée à basse concentration induisent la lyse spontanée de caillots plasmatiques et augmentent l'activité de l'urokinase, le composé le plus actif étant l'éthyl-uréthane (VON KAULLA et SMITH [74, 75]).

c) ACTIVATEURS D'ORIGINE TISSULAIRE OU HUMORALE :

- *Fibrinokinase :*

C'est une substance extraite de différents tissus qui active la transformation du plasminogène en plasmine.

- *Plasmine :*

CHRISTENSEN [33] pense que le plasminogène se transforme autocatalytiquement quand on extrait par traitement au chloroforme un inhibiteur qui serait présent dans le sérum.

- *Urokinase.*
- *Trypsine* [68].

d) ACTIVATEURS D'ORIGINE BACTÉRIENNE :

- *La staphylokinase :*

La staphylokinase active le plasminogène de l'homme, du chien, du chat et du cobaye, mais pas celui du rat et du bœuf (DAVIDSON [41]).

Elle active directement le plasminogène en plasmine, ne nécessitant pas l'intervention du proactivateur.

Le plasminogène activé par la streptokinase ou par la staphylokinase ne lyse pas la fibrine avec la même vitesse, mais des préparations de streptokinase et de staphylokinase suffisamment concentrées agissent dans le même temps.

Lorsque du plasminogène humain purifié est activé par de la staphylokinase, les temps d'activation dépendent de la concentration en staphylokinase. La réaction est probablement enzymatique car cet activateur n'est pas détruit pendant la transformation du plasminogène humain en plasmine.

L'activation par la staphylokinase est inhibée par la caséine ou par une impureté qui y est contenue.

Le plasminogène des euglobulines humaines est plus lentement activé que le plasminogène purifié du fait de la présence d'un inhibiteur de la staphylokinase.

Propriétés de la staphylokinase :

— elle est stable entre pH = 2 et pH = 11 à 5°C pendant 24 heures. Son maximum de stabilité se situe vers pH = 6-7 ;

— elle peut être chauffée 1 heure à 70°C et à pH = 7 ou bien 10 minutes à 100°C et à pH = 7 sans perte d'activité.

Comparaison entre la staphylokinase et la streptokinase :

— l'activation du plasminogène par ces deux substances est à peu près la même ;

— la streptokinase est inhibée par la caséine mais la staphylokinase l'est davantage.

• *La streptokinase* (SK) (Christensen [35]) :

Les filtrats de culture de streptocoques β hémolytiques sont capables de lyser les caillots de sang en présence d'un facteur extrait du plasma humain (plasminogène) (Tillett et Garner [143]).

La streptokinase utilisée couramment est obtenue à partir d'une souche de streptocoques d'origine humaine ; elle active le plasminogène humain mais pas le plasminogène bovin. Pour activer celui-ci, il faut ajouter une petite quantité de globulines sériques humaines (proactivateur) au mélange de streptokinase humaine et de plasminogène bovin.

1) SK + proactivateur humain $\rightleftarrows$ [activateur du plasminogène bovin].

2) Activateur + plasminogène bovin $\longrightarrow$ plasmine.

Le poids moléculaire de la streptokinase est voisin de 50.000.

La streptokinase :

— n'a pas d'activité protéolytique ;

— n'attaquerait pas les esters de la lysine et de l'arginine qu'hydrolysent la trypsine et la plasmine ;

— possède une activité estérasique (mise en évidence par l'hydrolyse de l'acétate de β-naphtyle).
Le diisopropylfluorophosphate (DFP), le cuivre, inhibent l'hydrolyse de l'acétate de β-naphtyle.
Le SBTI (Soybean Trypsin Inhibitor) n'a aucune action sur l'activité estérasique de la streptokinase, alors que c'est un puissant inhibiteur des enzymes protéolytiques tels que la trypsine et la chymotrypsine.

Blatt et coll. [22] ont étudié l'activité fibrinolytique de systèmes artificiels à l'aide d'une méthode utilisant la thromboélastographie. Leur observation constitue une nouvelle preuve apportée à l'hypothèse selon laquelle la plasmine humaine réagit avec la streptokinase pour former un complexe capable de convertir le plasminogène humain et bovin.

— *Rôle du proactivateur :* un activateur du plasminogène est formé par l'interaction de la streptokinase et d'un proactivateur présent dans le sang humain [108].

Dans les préparations de plasminogène bovin, la streptokinase en excès produit une activation beaucoup plus lente que celle obtenue à l'aide d'autres activateurs. Ceci peut dépendre d'une transformation incomplète du plasminogène bovin en plasmine. Il n'y a donc pas d'action directe entre la streptokinase et le plasminogène, ce qui peut faire supposer l'intervention d'un proactivateur du plasminogène (présent dans le plasma humain) [105] :

Avec une concentration suboptimale de streptokinase, on n'obtient qu'une transformation partielle du proactivateur en activateur, celle-ci étant suivie d'une lente détérioration de l'activateur formé.

La réaction entre la streptokinase et le proactivateur est stoechiométrique et aboutit à un équilibre.

La streptokinase et le proactivateur vont former deux composants : un activateur et un composé inactif.

— *Stabilité de l'activateur :* l'activateur est très labile aux réactions acides et alcalines avec un optimum de stabilité entre pH = 6,5

et 8, différant par cela des autres composants connus du système protéolytique sanguin :

— il est détruit à pH = 2,9 en présence de son substrat, le plasminogène ;
— fortement détruit à 37°C ;
— modérément détruit à 22°C ;
— lentement détruit à 5°C.

— *Antigénicité* : la streptokinase possède un pouvoir antigénique important que ne possède pas l'urokinase.

II. — LA RÉACTION ENTRE L'ACTIVATEUR ET LE PLASMINOGÈNE

[105]

Une importante quantité de proactivateur précipite avec les globulines humaines ; donc, par addition de streptokinase, un excès d'activateur étant formé, tout le plasminogène présent est activé.

Des mélanges de plasminogène (bovin) et d'activateur (globulines humaines activées par la streptokinase) sont ajoutés à des volumes égaux de solution de caséine et placés à 37°C. La digestion est suivie par la détermination de la transmission à 278 mμ de la fraction soluble des solutions précipitées par l'acide trichloracétique.

La quantité de plasmine formée dépend :

1° de la concentration du plasminogène dans le cas d'un excès d'activateur ;
2° de la concentration de l'activateur dans le cas d'un excès de plasminogène.

Une complète activation du plasminogène par la streptokinase ne peut être obtenue qu'en présence de quantités suffisantes de proactivateur. Dans le plasminogène bovin, le taux de proactivateur est beaucoup trop faible.

Les résultats obtenus dans le dosage du plasminogène ou de la plasmine dépendent des substrats utilisés et du mode d'activation des échantillons. Le plasminogène humain est 100 fois plus activé par la streptokinase que par la fibrinokinase.

III. — LIEU ET MÉCANISME DE LIBÉRATION DE L'ACTIVATEUR DU PLASMINOGÈNE
[52]

L'activateur du plasminogène peut être extrait de tous les tissus, sauf du foie et du placenta. Certains tissus en sont plus riches que d'autres.

Le foie peut être un lieu de destruction de l'activateur.

Les cirrhotiques répondent différemment des sujets normaux à un stimulus (acide nicotinique ou électrochoc) destiné à élever l'activité thrombolytique. Leur réponse est de plus grande importance et de durée plus longue que celle des sujets normaux.

Ou bien un taux constant mais bas d'activateur du plasminogène présent dans le plasma normal est suffisant pour induire la lyse des microthrombi, ou bien le dépôt d'un microthrombus cause-t-il une libération locale d'activateur.

Certains auteurs pensent que la formation du thrombus lui-même stimulerait la libération locale d'activateur selon un mécanisme déclenché par la lyse des plaquettes subissant la métamorphose visqueuse, mais cela n'est pas certain.

Astrup [13] a démontré que dans les artères l'activateur du plasminogène est localisé en premier lieu dans l'adventice plutôt que dans la média ou l'intima.

IV. — ACTIONS LOCALES SPÉCIFIQUES DE L'ACTIVATEUR DU PLASMINOGÈNE

L'activateur se retrouve dans diverses sécrétions et surtout dans l'urine. Il pourrait avoir un rôle préventif dans des obstructions des conduits urinaires par des dépôts fibrineux. Ces dépôts pourraient provenir d'une hémostase après traumatisme, leur lyse par l'urokinase devenant la cause de certaines hématuries. Peut-être une fonction similaire existe-t-elle dans d'autres organes qui sécrètent des liquides contenant des activateurs du plasminogène.

Dudok de Wit [46] étudie la fibrinolyse à l'aide de fibrinogène marqué à l'iode radioactif (^{131}I), en mesurant la radioactivité du surnageant. Une très légère différence entre le taux de plasminogène du plasma et du sérum indique que la quantité de plasminogène adsorbé

par la fibrine lors de la formation du caillot est minime. Le plasminogène est dosé par la méthode caséinolytique.

Les caillots pauvres en plasminogène sont lysés en même temps que les caillots riches en plasminogène par du plasma contenant un taux augmenté d'activateur sanguin. Ceci a suggéré à l'auteur une nouvelle hypothèse concernant le mécanisme de dissolution des caillots préformés : le plasminogène et l'activateur seraient tous deux adsorbés à partir du milieu plasmatique sur le caillot où se produit la transformation en plasmine.

Il est démontré d'autre part que l'urokinase et l'activateur tissulaire se comportent de la même manière que l'activateur se trouvant dans le sang, tandis que la streptokinase agit de façon tout à fait différente.

L'auteur en conclut que l'urokinase peut être un bien meilleur agent thrombolytique que la streptokinase.

V. — KINOGÈNES PLASMATIQUES ET FIBRINOLYSE THÉRAPEUTIQUE

Selon Salmon et Lecomte [126], la fibrinolyse thérapeutique libère chez l'homme des polypeptides vaso-actifs. Ces substances, du type de la bradykinine, favorisent le développement d'une circulation collatérale et facilitent ainsi l'attaque de l'obstacle vasculaire par l'enzyme lytique. L'efficacité du traitement fibrinolytique dépend à la fois de l'action dissolvante de la plasmine envers la fibrine et de son effet vaso-dilatateur, qu'explique une libération de kinines plasmatiques.

VI. — L'INDUCTION DE LA THROMBOLYSE PAR UN ACTIVATEUR

Cet activateur peut être par exemple l'urokinase ou la fibrinokinase en injection [117].

La plasmine active dans la circulation serait transportée vers le caillot et en même temps sujette aux réactions inhibitrices qui la neutraliseraient, ou bien l'activateur, transporté vers le caillot, y activerait après diffusion le plasminogène. Ceci paraît plus vraisemblable

car les activateurs ne sont pas apparemment soumis à l'action des inhibiteurs dans le sang et seraient donc transportés inchangés vers le caillot.

De plus, le danger d'hyperplasminémie dû à un surdosage est minimisé car le degré de plasminémie qui pourrait être atteint est limité par la teneur sanguine de plasminogène qui est bien inférieure à celle des inhibiteurs.

D'après Vairel [153, 154, 157], l'enzyme serait incomplètement inhibé dans le plasma, mais la plasmine serait immédiatement bloquée par le foie alors que les activateurs ne le seraient pas. Les inhibitions aux mécanismes d'inhibition dans le plasma sont plus puissantes que celles qui s'opposent à l'activité de la plasmine.

CHAPITRE IV

L'INHIBITION DU SYSTEME FIBRINOLYTIQUE

La fibrinolyse est réglée par un complexe enzymatique qui comporte des inhibiteurs. Ceux-ci possèdent des groupes chimiques spécifiques analogues à ceux présents dans le plasminogène [37].

La plasmine se lie à la fibrine ou à l'inhibiteur spécifique ; l'interaction est centrée sur la présence des groupes (Arginine-Lysine) dans les molécules de substrat. Les inhibiteurs de plasmine pourraient donc être considérés comme ayant des sites architecturaux semblables à ceux de la fibrine.

L'inhibition de la fibrinolyse serait réversible. Le complexe plasmine-inhibiteur serait dissociable en présence de substrat, la plasmine ayant une plus grande affinité pour la fibrine que pour l'inhibiteur. Ainsi pourrait-on expliquer la thrombolyse sans activité fibrinolytique importante dans le sang circulant (Ambrus et coll. [7]).

Parmi les inhibiteurs de la fibrinolyse, on distingue :

1) Les antiplasmines.
2) Les inhibiteurs d'activation du plasminogène.
3) Un antiproactivateur possible.

LES INHIBITEURS

Selon Vairel [157], l'inhibition plasmatique se manifesterait lors des trois stades de l'action globale :

1) Action de la plasmine.
2) Action de l'activateur sur le plasminogène.
3) Formation d'activateur.

Le rôle de la fibrine serait favorable à l'activation, le fibrinogène n'intervenant pas.

I. — L'INHIBITION DE LA PLASMINE

Selon NORMAN et coll. [116], la réaction d'inhibition de la plasmine se ferait en deux stades :

• *Première phase :*

Il y aurait immédiatement une inhibition qui serait quantitativement indépendante de la température. Cette phase est trop rapide pour qu'on puisse en mesurer les caractéristiques. L'inhibition naturelle serait de nature compétitive et par conséquent toujours incomplète.

• *Deuxième phase :*

C'est une réaction plus lente, qui dépend de la température ; elle semble être due à une réaction bimoléculaire d'un inhibiteur avec la plasmine. Après un certain laps de temps, la plasmine est complètement inhibée.

Par cette réaction, le pouvoir plasmatique d'inactiver la plasmine est très grand, environ 3 fois celui de la plasmine potentielle que l'on est susceptible de trouver dans le sang normal.

Les substances responsables de ces propriétés ont été étudiées grâce à l'électrophorèse du plasma. Le pouvoir inhibiteur de chaque fraction ayant été mesuré, il a été montré que ces deux propriétés sont trouvées dans différentes protéines sériques :

— l'inhibiteur immédiat migre avec les α 2 globulines ;

— l'inhibiteur lent migre avec les α 1 globulines ;

d'où leur appellation d'α 1 antiplasmine et α 2 antiplasmine [54].

1) L'antiplasmine α 2 se combine immédiatement avec la plasmine. Son action inhibitrice est inférieure ou égale à 30 %. Cette combinaison est rendue réversible si l'on est en présence d'un excès de fibrine.

2) L'antiplasmine α 1 a une action plus lente que la précédente et à peu près irréversible.

1) Les inhibiteurs sériques

La réaction des inhibiteurs sériques avec la plasmine est profondément affectée par la présence d'une protéine substrat [116].

a) L'inhibition par l'α 2 antiplasmine est rendue réversible par l'augmentation de la concentration de la protéine substrat (alors que l'inhibition par l'α 1 antiplasmine, non réversible, n'est pas influencée par un excès de substrat).

Ceci explique pourquoi un caillot de sang plongé dans du plasma peut être digéré même en présence de puissants inhibiteurs.

La fibrine, comme substrat typique, a plus d'affinité pour le centre actif de la plasmine que l'antiplasmine.

Les inhibiteurs ne se combinent avec la plasmine qu'après disparition de la fibrine en présence.

Le fibrinogène, en tant que substrat pour la plasmine dans les systèmes purifiés, semble avoir moins d'affinité pour la plasmine que les inhibiteurs et l'on a montré que la plasmine peut être activée dans tout le plasma sans perte de fibrinogène.

Lorsque l'on pratique dans les thromboses une injection intra-veineuse de plasmine, une partie des molécules est inactivée par les inhibiteurs circulants, mais il se peut que quelques molécules de plasmine encore actives parviennent au caillot.

b) La réaction de la plasmine avec l'α 1 antiplasmine est moins réversible, mais elle prend un temps tel qu'une partie de la plasmine injectée peut exister non inhibée dans la circulation jusqu'à ce qu'elle atteigne le caillot.

La fibrine serait en compétition avec l'antiplasmine vis-à-vis de la plasmine.

La fibrine substrat peut rendre en partie réversible la combinaison de la plasmine avec l'inhibiteur lent.

Ceci est important car un peu de plasmine, même en combinaison plus ou moins forte avec un inhibiteur, peut être libérée au niveau d'un caillot.

Le complexe circulant plasmine-antiplasmine pourrait fonctionner comme un réservoir de plasmine susceptible de dissoudre le caillot. La fibrine séparerait la plasmine du complexe, mais ceci est discuté.

La plasmine en injection intra-veineuse peut induire l'afibrinogénémie. Les inhibiteurs normaux protègent le fibrinogène, mais une afibrinogénémie due à un surdosage de plasmine pourrait s'ensuivre si l'on donnait assez de plasmine pour dépasser le pouvoir inhibiteur normal du sang. Cependant, le taux élevé d'inhibiteurs dans le sang présente une marge considérable de sécurité.

Il faut noter l'importance de la relation antiplasmine-plasmine-fibrine du caillot, de la quantité d'activateur du plasminogène et de

l'activité antifibrinolytique des plaquettes qui se trouvent dans le caillot : en effet, la plasmine et l'urokinase attaquent plus facilement un caillot formé à partir d'un plasma dépourvu de plaquettes que d'un plasma riche en ces éléments.

2) L'inhibiteur plaquettaire [71, 102, 160]

L'activité antiplasminique diminuant avec le lavage des plaquettes, on pense que ces éléments fixeraient une partie de l'activité antiplasminique du sérum [102].

Mais il existe en outre une activité antiplasminique plaquettaire propre que l'on met en évidence après destruction des plaquettes lavées, puis congelées et décongelées.

Un déficit en antiplasmine lié à une thrombopathie peut être une cause de fibrinolyse [160]. Chez les sujets atteints de ce déficit, l'addition à leur sérum sans plasminogène, de plaquettes normales lavées et détruites, entraîne une correction parfaite du déficit antiplasminique observé ; au contraire, l'addition d'une suspension de plaquettes lavées et détruites des malades n'entraîne qu'une correction partielle. L'électrophorèse d'extraits plaquettaires de ces patients ne montre que des traces ou une absence complète de taches au niveau de l'albumine et des globulines.

L'électrophorèse a pu montrer que l'activité antiplasminique plaquettaire normale se situe au niveau des α 1, α 2 et γ globulines, surtout au niveau des α 2 globulines, en quantité moins importante au niveau des α 1 globulines, encore moins importante dans les γ globulines. En revanche, on ne retrouve rien dans les zones de l'albumine et des β globulines.

Cependant l'action antitrypsique des α 1 globulines est supérieure à celle des α 2 globulines. Quant à la fraction γ, elle ne présente aucune action. Donc, les α 2 globulines ont une activité antiplasminique supérieure aux α 1 globulines et une activité antitrypsique inférieure aux α 1 globulines.

L'activité antiplasminique du sérum est supérieure à celle du plasma.

L'inhibiteur plaquettaire aurait un rôle important dans l'hémostase, dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale. Son rôle est fonction de la quantité et de la qualité des plaquettes.

3) Les antiplasmines tissulaires

Les antiplasmines tissulaires existent en quantité importante dans le foie, la rate, les poumons, les glandes thyroïde et surrénales, le

liquide séminal, le mucus cervical (pas d'inhibiteur au moment du cycle menstruel), les muscles, le cœur.

A partir de différents tissus et des urines, on a pu obtenir à l'état purifié des facteurs antiprotéolytiques.

Selon DEUTSCH et ELSNER [43], on ne sait pas si l'on mesure actuellement l'activité antitryptique, antifibrinolytique, antiactivateur, antistreptokinase, ou l'ensemble.

4) Les inhibiteurs synthétiques exogènes de la plasmine

- *L'inhibiteur de peptidases :*
  a) Inhibiteur de KUNITZ (Iniprol CHOAY) extrait du pancréas. C'est un polypeptide (PM = 6.000) inhibant la plasmine, la trypsine, la chymotrypsine.
  b) Inhibiteur de FREY (Trasylol BAYER, Zymofren) extrait des parotides. C'est un polypeptide de PM = 12.000.
- *Les extraits de fève de soja* contiennent un inhibiteur de la trypsine (SBTI = *Soybean Trypsin Inhibitor*), puissant inhibiteur de plasmine [87].
  Les fèves de soja ont la même activité antiplasminique que les fractions globuliniques α 1 et α 2.
  Selon KLINE et FISHMAN [81], l'inhibiteur contenu dans le soja agirait en bloquant l'activité protéolytique de la plasmine, mais n'empêcherait pas la transformation du plasminogène en plasmine. Le SBTI n'inhibe pas l'activité estérasique induite dans le sérum par traitement par le chloroforme (CHRISTENSEN et MACLEOD [32]).
- *L'acide epsilon aminocaproïque* présente une activité antiplasminique quoique beaucoup plus faible que son activité inhibitrice de l'activation du plasminogène.
- *L'AMCHA* (1 (aminomethyl) cyclo hexane-4-carboxylic acid) [118].
- *L'hémisuccinate de chloramphénicol.*
- *L'héparine* à une certaine concentration (VON KAULLA et MAC DONALD [73]).
- *L'ACTH* [122].
- *Les arachides non torréfiées* (extrait alcoolique).
- *Les organo-phosphates* comme le DFP (diisopropylfluorophosphate) et *les sels de métaux lourds* (cuivre, nickel, colbat, zinc), [84].

II. — LES INHIBITEURS DE L'ACTIVATION DU PLASMINOGÈNE

1) Principales propriétés de ces inhibiteurs

— Ils sont présents dans le plasma et le sérum [114];
— inhibent l'activation du plasminogène par la streptokinase ou par l'urokinase ;
— sont détruits par chauffage de 30 minutes à 56°C ou après 20 heures à 37°C [39];
— ne sont pas dialysables ;
— ne sont pas adsorbés par le sulfate de baryum ;
— si l'on précipite les β lipoprotéines du sérum par le sulfate de dextran, ils restent dans le surnageant ;
— restent dans le surnageant des euglobulines précipitées par acidification du plasma dilué ;
— les propriétés inhibitrices de l'activation du plasminogène se retrouvent à l'électrophorèse dans les α 2, α 1, γ globulines et un peu dans les β 1 globulines.

Les α 1, α 2 et β 1 globulines inhibent l'activation du plasminogène par l'urokinase.

Au contraire, les γ globulines inhibent surtout l'activation du plasminogène par la streptokinase.

L'inhibiteur des α 2 globulines est inactivé par chauffage à 56°C pendant 30 minutes.

L'inhibiteur des γ globulines est stable dans ces conditions.

— D'après l'étude des γ globulines par immunoélectrophorèse, cette fraction contiendrait les anticorps antistreptokinases. Cette fraction n'a pas d'effet inhibiteur en présence d'urokinase et pas d'effet antiplasmine.
— L'électrophorèse avec fractionnement par l'éthanol montre qu'un composant inhibant l'activation du plasminogène par la streptokinase ou par l'urokinase peut être retrouvé dans les fractions contenant les α 2 globulines.

2) Antistreptokinases

Des antiactivateurs tels que les antistreptokinases peuvent se développer dans le sang circulant au contact de la streptokinase introduite par voie intra-veineuse dans un but thérapeutique, ou bien à la suite d'une infection streptococcique.

L'antigénicité de la streptokinase présente un grand inconvénient en thérapeutique thrombolytique car il faut neutraliser les anticorps présents avant d'obtenir l'effet lytique, d'où la nécessité de pratiquer une épreuve de résistance à la streptokinase avant tout traitement, de manière à fixer la dose à injecter au départ pour chaque malade.

L'urokinase a l'avantage de n'être pas antigénique.

3) Inhibiteurs d'activation synthétiques

— L'acide epsilon aminocaproïque [5].
— L'AMCHA [118].
— Le DFP (diisopropylfluorophosphate).

III. — INHIBITION DE LA FORMATION DE L'ACTIVATEUR

Les inhibiteurs de cette phase sont encore très mal connus.

REMARQUE

Il faut réserver une place particulière aux inhibiteurs de la trypsine, présents dans le sérum [114].

CHAPITRE V

LE DESEQUILIBRE DU SYSTEME FIBRINOLYTIQUE

Selon la théorie de la « balance hémostatique », il existerait une coagulation intravasculaire continue (dépôts de fibrine), suivie de lyse. La lyse de la fibrine s'expliquerait par l'existence d'un activateur circulant du plasminogène, ou par un activateur libéré localement. Mais cette théorie est discutée à l'heure actuelle car la durée de vie du fibrinogène reste la même chez le chien après héparinisation continue.

Des déficiences congénitales en plasmine ou en plasminogène ont été décrites mais elles ne se rencontrent pas fréquemment.

- I -

En général, les *fibrinolyses* apparaissent à la suite d'un *excès d'activation* ou *d'un défaut d'inhibition* du système fibrinolytique.

L'augmentation de la plasmine circulante survient lorsque la vitesse d'activation du plasminogène dépasse les possibilités d'inhibition sanguine. Ceci se rencontre après déversement brutal d'activateur dans la circulation (par exemple dans le stress ou au cours de certaines interventions chirurgicales).

La diminution du taux des antiplasmines peut aussi favoriser les accidents fibrinolytiques. Cette éventualité peut exister dans les insuffisances hépatiques sévères ou en cas d'intense thrombopénie avec chute secondaire de l'antiplasmine plaquettaire. Cette dernière pathogénie pourrait expliquer le syndrome hémorragique rencontré dans certaines leucoses. Dans certaines thrombopénies, l'intensité du purpura est proportionnelle à l'activité fibrinolytique et inversement proportionnelle au nombre des thrombocytes circulants.

La gravité du syndrome qui induit l'hyperplasminémie lorsque les mécanismes d'inhibition sont dépassés s'explique par la polyvalence

de l'enzyme qui peut dégrader non seulement la fibrine mais également le fibrinogène et les facteurs sanguins V et VIII : on parle alors plus volontiers de protéolyse que de fibrinolyse. Les produits de protéolyse n'ont pas d'action inhibitrice sur la thrombine mais agissent en inhibant la polymérisation des monomères de fibrine. Le microscope électronique [17] a en effet permis de constater le désordre de morphologie du caillot.

De Vries et coll. [160] ont mis en évidence une activité fibrinolytique marquée dans le sang de dix sujets atteints de polyglobulie. Dans ces cas la fibrinolyse est considérée comme une déficience en antiplasmine. Cet inhibiteur probablement fixé à la surface des plaquettes normales est absent dans les thrombocytes des malades étudiés. La déficience en antiplasmine est alors due à un défaut des plaquettes et représente une forme de thrombopathie qui ne répond pas au traitement par l'acide epsilon aminocaproïque ni à la prednisone. Seuls des extraits alcooliques d'arachides non torréfiées ont apporté quelque amélioration.

D'après Bellet et coll. [19], un puissant activateur du plasminogène libéré dans le flot sanguin par administration d'insuline augmenterait l'activité thrombolytique du plasma de sujets atteints de diabète avec acidose. Le comportement de cet activateur est semblable à celui décrit par Mullertz [104] dans le sang de sujets morts subitement par anoxie aiguë, et à celui décrit par Sherry et coll. [137] dans le sang de sujets ayant subi un électrochoc, ou après exercice [20], ou par l'action de pyrogènes [43].

Dans le diabète sucré en cas d'acidose, l'augmentation de l'activité fibrinolytique s'accompagne d'une diminution de l'inhibition de la thrombolyse. L'activité fibrinolytique augmente peu après l'installation de l'état d'acidose. L'insuline provoquerait la libération d'un activateur.

Hajjar et Moser [64] ont étudié les variations dans le plasma des taux de fibrinogène et de l'activité des euglobulines chez les sujets normaux, diabétiques et cirrhotiques. Chez ces derniers, l'équilibre de la coagulation est altéré. Chez les témoins jeunes ou âgés normaux, ces auteurs ne trouvent pas de différence notable dans les moyennes des taux de fibrinogène et de la lyse des euglobulines.

Chez les diabétiques, la lyse des euglobulines est comparable à celle des sujets normaux, mais le fibrinogène est augmenté.

Chez les cirrhotiques, le taux de fibrinogène est comparable à celui des sujets normaux, mais la lyse des euglobulines est diminuée.

Cependant, des variations individuelles du fibrinogène et de la lyse des euglobulines peuvent être observées au cours de la journée chez tous les sujets.

- II -

Les facteurs déclenchants sont nombreux et agissent aux divers niveaux du système fibrinolytique. Dans certains cas, l'activation de la fibrinolyse peut être secondaire à une *coagulation intravasculaire*. Ainsi s'expliqueraient les phénomènes observés après embolie de liquide amniotique.

Chez les sujets présentant des complications thromboemboliques, Baluda [16] a trouvé une diminution de l'activité fibrinolytique, qui serait caractéristique de l'état préthrombotique. Cela favoriserait la formation de thrombi dans tous les états accompagnés d'une décharge de thromboplastine tissulaire dans le flot sanguin et d'un activateur de la coagulation.

Baluda constate aussi dans ces cas une augmentation de la tolérance à l'héparine pendant la période post-opératoire. Un des facteurs de cette augmentation est l'apparition dans le sang d'un inhibiteur de l'héparine qui se forme pendant la coagulation au niveau de l'agression de la paroi vasculaire. L'inactivation de l'héparine est suivie d'une chute de l'activité anticoagulante du sang et d'une augmentation de sa tendance à la formation de thrombi intra-vasculaires. D'autre part, une augmentation de l'index d'adhésivité des plaquettes sanguines indique un degré actif de thrombose.

Gollub et coll. [56] ont noté la présence d'une réduction de l'activité antiplasminique avec coagulation intravasculaire et hyperfibrinolyse dans des accidents obstétricaux.

- III -

Les *thromboses* cliniques peuvent être considérées comme conséquence d'une maladie de la paroi vasculaire, d'une hypercoagulabilité du sang, d'une *inhibition ou d'un défaut d'activité du système plasminogène-plasmine* (Fletcher et coll. [52]). L'étude de l'urokinase urinaire a permis de montrer que son excrétion urinaire diminue chez les sujets atteints de maladies avec thromboses (déficience cardiaque par exemple), mais elle augmente cependant dans l'infarctus du myocarde.

Une augmentation de l'inhibition de la fibrinolyse a été décrite comme une cause anormale de thrombus. Nilsson et coll. [114] ont décrit un cas de thromboses à répétition avec une augmentation des

inhibiteurs du plasminogène. NAEYE [110] a trouvé des titres élevés d'antiplasmine et d'antiplasminogène chez deux malades présentant des désordres thrombotiques sévères. L'un de ces deux sujets aurait eu un purpura fulminans avec gangrène.

- IV -

Dans certains états, une diminution de la fibrinolyse serait due à une *augmentation des inhibiteurs* dans le sang.

Les travaux de GABURRO et coll. [54] ont montré que chez les nouveau-nés normaux le taux des inhibiteurs d'activation du plasminogène est inférieur à celui des âges suivants et à celui de la mère. Chez les nouveau-nés après accouchement dystocique, ce taux est augmenté par rapport aux valeurs normales de la période néonatale, ce qui réduit le déséquilibre hyperfibrinolytique provenant de l'augmentation du plasminogène et de l'hyperactivation de l'activateur. Dans les décollements placentaires, les antiplasmines diminuent dans les douze à quatorze premières heures, entraînant ainsi un état fibrinolytique parfois prolongé.

KUENZER et STROEDER [86] ont noté une augmentation très importante de l'activité antiplasminique chez les enfants prématurés malgré l'augmentation de l'activité fibrinolytique.

SANDBERG et coll. [133] ont trouvé une augmentation de l'inhibition du plasminogène dans l'infarctus du myocarde et dans les thromboembolies. La concentration du fibrinogène est élevée dans tous les cas où les inhibiteurs augmentent. La diminution du fibrinogène et des inhibiteurs est obtenue par administration de thrombolysine.

CORREL et SJOERDSMA [39] ont noté une augmentation significative de l'activité inhibitrice de la fibrinolyse dans le sérum de huit malades représentant cinq désordres primaires différents : œdème pulmonaire aigu, hémorragie, hyperlipémie, syndrome de malabsorption intestinale, toxicoses. Aucun de ces malades n'ayant manifesté de thrombose, ceci suggère qu'une augmentation du taux des inhibiteurs de la fibrinolyse peut n'avoir aucune relation avec le dépôt de fibrine *in vivo*.

L'étude des inhibiteurs de la fibrinolyse faite par MORIAU et coll. [102] montre :

— une augmentation des inhibiteurs dans les thromboses artérielles et veineuses aiguës, l'infarctus du myocarde, les affections rénales avec azotémie ;

— une légère augmentation dans le diabète ;

— une diminution dans l'hépatite virale, les cirrhoses, certaines affections sanguines (polycythémies, myélofibroses, leucoses, lymphogranulomatoses malignes, affections néoplasiques, métastases).

Greig [57] a décrit une augmentation de l'inhibition de la fibrinolyse chez des sujets normaux après un repas riche en graisses et surtout en lipides saturés.

Cliffton et Burchell [36] ont montré que l'huile de carthame réduit le taux de cholestérol et déprime l'activité antifibrinolytique chez l'homme. Des émulsions de corps gras saturés produisent une inhibition de la fibrinolyse plus marquée que les émulsions de corps gras non saturés.

Iatridis et Ferguson [67] ont noté un excès d'antifibrinolysine dans un déficit en facteur Hageman.

CHAPITRE VI

LES FIBRINOLYSES

I. — LES FIBRINOLYSES PHYSIOLOGIQUES

Selon l'hypothèse de l'existence d'une coagulation et d'une fibrinolyse continues [12] dans le sang circulant normal, une rupture d'équilibre dans un sens ou dans l'autre provoquerait soit une hémorragie, soit une thrombose.

Dans le plasma, la plasmine, enzyme protéolytique au spectre large, est neutralisée par les antiplasmines alors que dans le caillot (où les inhibiteurs sont absents) la plasmine peut agir sur un seul substrat, la fibrine, dans les conditions physiologiques.

La fibrinolyse peut être due :

1) A une augmentation de l'activité de la plasmine :
   — augmentation de l'activateur du plasminogène ;
   — diminution ou absence d'inhibiteurs de ces activateurs.
2) A une augmentation du taux de proactivateur.

L'exaltation de l'activité fibrinolytique naturelle peut être observée après l'exercice physique [21, 37], l'anxiété, l'anoxémie, l'ischémie locale, le choc, les brûlures étendues, le choc hémorragique, l'électrochoc, tout stress en général, l'injection de polysaccharides bactériens, de certaines substances comme les vaccins, d'acide nicotinique [130, 163], d'adrénaline [20].

Un mécanisme nerveux pourrait donc intervenir dans les phénomènes d'activation du système fibrinolytique.

La fibrinolyse spontanée présente des variations diurnes : basse dans les premières heures matinales, elle augmente pendant la journée [21, 28, 49].

Chez les femmes, des variations cycliques du fibrinogène, du plasminogène et des antifibrinolysines sont en relation avec le cycle mens-

truel. Il y a une activation de la fibrinolyse au moment des règles quand le taux des œstrogènes diminue. Ce phénomène disparaît avec la ménopause, d'où une plus grande tendance à la formation de thromboses à cette période.

Le système fibrinolytique tissulaire joue un rôle primordial dans la pathogénie de l'inflammation, par exemple dans la résorption des dépôts fibrineux. Les taux élevés d'activateurs dans certains organes (poumons, prostate, rate, pancréas) pourraient expliquer l'activation de la fibrinolyse lors d'interventions chirurgicales les intéressant.

II. — LES FIBRINOLYSES PATHOLOGIQUES

Suivant qu'elles se manifestent cliniquement d'une manière plus ou moins intense, et parfois dramatique, nous pouvons distinguer :

a) Les fibrinolyses aiguës, cataclysmiques qui se manifestent par une incoagulabilité du sang due à la disparition du fibrinogène par protéolyse, et donc par de graves hémorragies.

b) Les fibrinolyses atténuées susceptibles de provoquer des hémorragies au niveau de lésions vasculaires préexistantes.

c) Les fibrinolyses latentes ou frustes sans manifestations hémorragiques et d'évolution imprévisible.

Souvent les fibrinolyses présentent un caractère transitoire.

Une coagulation intravasculaire peut créer un syndrome hémorragique par consommation excessive des facteurs de coagulation et s'accompagner d'autre part d'une fibrinolyse.

1) Les fibrinolyses médicales

Elles se rencontrent le plus fréquemment dans les cas de :

— cancer de la prostate ;
— cirrhoses du foie (le mécanisme n'en est pas précisé);
— hémopathies telles que leucémies, maladie de Vaquez.

2) Les fibrinolyses chirurgicales

En chirurgie, l'hyperactivité lytique se manifesterait selon un processus général ou local.

Processus général :

— par protéolyse due à la présence d'une importante quantité de plasmine rendue libre soit par défaillance du système inhibiteur, soit lorsque les activateurs débordent le système inhibiteur ;

— par thrombolyse, en l'absence de plasmine circulante. La thrombolyse dépendra du taux des activateurs qui peuvent activer le plasminogène du caillot.

Processus local :

— le tissu lésé libèrerait dans le sang circulant un activateur du plasminogène.

Dans tout acte chirurgical important, fibrinolyse et coagulation intravasculaire peuvent être présentes. L'activité lytique pourrait être provoquée par les activateurs tissulaires, ou bien être secondaire à un stade initial d'hypercoagulabilité et serait dès lors déclenchée par des microthromboses multiples. La lyse de la fibrine serait produite soit par l'activateur circulant du plasminogène, soit par un activateur libéré localement.

Les fibrinolyses chirurgicales les plus importantes se rencontrent au cours des interventions suivantes :

a) Chirurgie des cirrhoses (anastomose porto-cave) :

La diminution de l'antilysine, normalement produite par le foie, pourrait permettre aux activateurs plasmatiques de développer leur action.

b) Chirurgie thoracique pulmonaire :

Deux sortes d'activateurs semblent libérés au cours de la chirurgie d'exérèse pulmonaire :

1) Des activateurs de la coagulation : une thromboplastine active qui serait la cause d'une hypercoagulabilité et de thromboses post-opératoires.
2) Des activateurs de la lyse : une lysokinase tissulaire.

c) Chirurgie cardiaque a cœur ouvert sous circulation extra-corporelle :

L'activation du système fibrinolytique est très marquée et peut exercer ses effets selon deux modalités :

1) Présence dans le sang circulant d'un excès de plasmine libre.
2) Augmentation du taux d'activateur.

Dans l'hyperactivité lytique rencontrée dans ces cas, d'autres facteurs peuvent aussi intervenir :

— l'activation de la coagulation en circulation extra-corporelle par des substances étrangères ;
— l'hypothermie profonde provoquant un refroidissement inégal et des anoxies cellulaires pouvant induire une fibrinolyse ;
— la tétralogie de Fallot, sans doute à cause de l'anoxie ;
— la brusque accélération de la coagulation lors de la neutralisation de l'héparine ;
— le mélange de sangs parfois incompatibles.

d) Chirurgie urologique :

— Hypothèse d'une coagulation intravasculaire (fréquence de thromboses veineuses dans les cancers de la prostate) coexistant avec une fibrinolyse provoquée par les enzymes protéolytiques et les activateurs tissulaires, dont le tissu prostatique est très riche, et qui seraient libérés dans la circulation lors de l'opération.
— D'autre part, la persistance des hémorragies après prostatectomie pourrait s'expliquer par la présence dans l'urine d'urokinase, qui provoquerait une fibrinolyse locale.

3) Les hémorragies obstétricales par fibrinolyse ou coagulation intravasculaire

Les accidents hémorragiques seraient liés au passage dans le sang maternel de substances à activité thromboplastique ou protéolytique.

Les activateurs seraient responsables d'hémorragies utérines pathologiques.

Celles-ci surviennent en général après la délivrance.

Les fibrinolyses hémorragiques obstétricales se rencontrent le plus souvent dans :

a) Le décollement prématuré du placenta :

Il pourrait se produire dans ce cas une hémorragie avec coagulation dans l'utérus, les dépôts de fibrine entraînant une hypofibrinogénémie et une consommation de facteurs de coagulation. Ces dépôts seraient détruits ultérieurement par fibrinolyse.

Donc, la fibrinolyse, quand elle se manifeste, serait secondaire à l'état de choc et aux microthromboses. Parfois, elle n'apparaît qu'après disparition de tout le fibrinogène.

b) L'embolie amniotique :

Le liquide amniotique passe dans la circulation maternelle et y apporte ses *propriétés thromboplastiques* pouvant provoquer une coagulation intravasculaire chez la mère.

Une fibrinolyse secondaire apparaîtra.

D'autre part, le liquide amniotique apporte aussi des *activateurs du plasminogène* (fibrinolyse primaire).

c) La rétention prolongée du fœtus.

d) L'avortement provoqué.

e) Quelquefois dans diverses autres circonstances obstétricales.

4) Fibrinolyse et transfusions

a) Role des transfusions massives :

Elles entraîneraient parfois un saignement anormal avec incoagulabilité sanguine, mais il est difficile de faire la différence entre les accidents dus à la transfusion elle-même et ceux qui relèvent de l'affection qui l'a nécessitée.

b) Role de la transfusion de sang incompatible :

Elle déclenche une hémorragie anormale. Une coagulation intravasculaire serait provoquée par la mise en circulation d'une substance issue d'hématies hémolysées et possédant une action analogue à la thromboplastine.

Le choc hémolytique ferait apparaître la protéolyse.

CHAPITRE VII

LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA FIBRINOLYSE

1) Les épreuves globales

a) Lyse du caillot de sang total :

La lyse du caillot sanguin peut être appréciée sur les tubes utilisés pour la mesure du temps de coagulation (technique de Lee et White) après 24 heures d'incubation à 37°C. Normalement, le caillot ne commence à se dissoudre qu'après 24 à 48 heures.

b) Lyse du caillot plasmatique :

L'observation du caillot plasmatique (obtenu pour la mesure du temps de Howell) maintenu à 37°C est une technique un peu plus sensible que la précédente. Normalement, aucune lyse n'est visible en 72 heures. Ce temps peut être raccourci à quelques heures ou à quelques minutes dans les fibrinolyses.

c) Lyse du sang total ou du plasma après coagulation par la thrombine :

Normalement, aucune lyse ne doit être observée en 72 heures.

d) Techniques sensibilisées par la dilution, qui réduit l'action des inhibiteurs et augmente de ce fait l'activité fibrinolytique.

— Lyse du sang total dilué d'après Fearnley [30].
Le sang total est dilué dans un tampon et coagulé par la thrombine. Après un séjour de 30 minutes à 4°C, le tube est placé à 37°C et la lyse observée. Selon Fearnley, le temps de lyse est compris normalement entre 1 et 12 heures, avec un temps moyen de 6 heures.

— Lyse du sang total dilué selon Dausset [30].
Le liquide de dilution est composé de sérum sanguin de groupe AB décomplémenté et de tampon phosphate de Sörensen.
Normalement, la lyse ne doit pas se produire avant 72 heures.

e) La thromboélastographie :

En cas de fibrinolyse, le thromboélastogramme permet d'observer des images en fuseau tout à fait caractéristiques.

f) Lyse du caillot des euglobulines :

Les euglobulines plasmatiques peuvent être précipitées par la méthode de Milstone [99] (par l'acide acétique) ou de Von Kaulla et Schultz [72] (par le gaz carbonique). Après redissolution du précipité dans une solution tampon et coagulation par la thrombine, les temps de lyse sont observés. Normalement, le temps de lyse des euglobulines est égal ou supérieur à 3 heures.

g) Lyse du caillot marqué a l'Iode radioactif :

Un caillot standard marqué à l'^{131}I est incubé dans le milieu à étudier. L'activité fibrinolytique est mesurée en dosant la radioactivité du surnageant.

h) Lyse du caillot marqué a l'aide d'un indicateur fluorescent :

Un caillot marqué par l'isothiocyanate de fluorescéine est incubé dans le liquide à étudier. La mesure de la fluorescence du surnageant permet d'évaluer l'activité fibrinolytique.

i) Technique des plateaux de fibrine, selon Astrup et Mullertz [9] :

Du fibrinogène bovin dissout dans un milieu tamponné est coagulé par la thrombine dans une boîte de Petri.

Le dépôt à la surface de ce gel de fibrine d'une goutte de plasma pathologique ou d'une solution d'euglobulines permet l'estimation semi-quantitative des activateurs et de la plasmine par la mesure des zones de lyse.

Pour éliminer le plasminogène présent dans les préparations du fibrinogène, les plateaux peuvent être chauffés à 80°C pendant 30 minutes.

2) Les épreuves indirectes

a) Dosage du fibrinogène :

Le plus souvent, le fibrinogène plasmatique est transformé en fibrine que l'on évalue par pesée ou par colorimétrie.

b) Le temps de thrombine :

Cette détermination permet de différencier une héparinémie d'une hypofibrinogénémie.

Le temps de thrombine peut être allongé en présence d'une antithrombine VI.

c) Le dosage des facteurs du complexe prothrombinique.

d) Techniques immunologiques.

3) Etude analytique du système fibrinolytique

a) Dosage du proactivateur :

Techniques de Vairel [156] et Blix [27].

b) Dosage du plasminogène.

La plasmine provenant de l'activation du plasminogène par la streptokinase ou l'urokinase peut être dosée sur différents substrats :
— caséine [123];
— substrats synthétiques [125];
— fibrinogène (en tube) [112];
— sur plateaux de fibrine [25].

c) Dosage des inhibiteurs :

Techniques de Vairel et Thely [155]; Nilsson et coll. [114].

CHAPITRE VIII

LE TRAITEMENT

1) Traitement substitutif

Ce traitement permet de remplacer les facteurs détruits par les agents lytiques.

a) La transfusion de sang frais :

Elle permet de rétablir la masse sanguine, d'éviter l'aggravation du choc, de limiter l'anoxie, de restaurer le taux des facteurs du complexe prothrombinique et du facteur VIII (anti-hémophilique A). Elle apporte le fibrinogène et des inhibiteurs de la fibrinolyse.

b) Le plasma concentré :

Il contient tous les facteurs de coagulation, l'albumine et des anti-plasmines.

c) Le fibrinogène :

Une concentration minimale de 1 gramme par litre de plasma étant nécessaire pour assurer une bonne hémostase, il faut donc administrer des doses de l'ordre de 3 à 6 grammes de fibrinogène. Cette quantité devra être répétée dans les cas de fibrinolyse grave.

Quelquefois, l'hémorragie peut être arrêtée, mais le choc prolongé a créé des lésions viscérales irréversibles.

Pour prévenir les accidents aigus, il faut éviter les manœuvres qui activeraient le système lytique et surtout utiliser les inhibiteurs spécifiques d'activation tels que l'acide epsilon aminocaproïque.

2) Traitement étiologique

a) Extraits de fève de soja ou inhibiteur de la trypsine isolé a partir de ces extraits et cristallisé :

C'est un puissant inhibiteur de la plasmine, qui possède une nette activité antiprotéolytique.

Ce produit n'est pas toxique mais possède un pouvoir anticoagulant qui a restreint son application en thérapeutique.

b) Inhibiteur de Kunitz, d'origine pancréatique (Iniprol) :

C'est un polypeptide de PM = 6.000 qui inhibe la trypsine, la chymotrypsine et d'autres enzymes protéolytiques, dont la plasmine. L'Iniprol est titré en unités inhibitrices de protéinases (unités IP). Une unité IP est définie comme possédant la puissance nécessaire pour inhiber l'activité de 1 unité ST de trypsine. Le flacon de 5 ml de soluté injectable contient 1 million d'unités IP. Dans les accidents hémorragiques cataclysmiques par protéolyse, il faut injecter par voie intraveineuse, dès que le phénomène est observé, 4 à 6 millions d'unités IP en même temps que la thérapeutique substitutive est mise en route. Cette dose peut ensuite être répétée selon les besoins.

Dans les cas de fibrinolyse fruste ou à titre préventif, si l'on craint une fibrinolyse pré ou post-opératoire, on pratique des injections de 1 à 2 millions d'unités IP, qu'il faut répéter car l'Iniprol n'a qu'une brève durée d'action (environ 20 minutes après l'injection).

c) Inhibiteur de Frey, d'origine parotidienne (Trasylol, Zymofren) :

C'est un polypeptide de PM = 12.000 qui est titré en unités d'inactivation de la kallikréine (unités IK).

L'unité IK est la quantité d'inactivateur de la kallikréine qui, à un pH = 8 et après un contact de 2 heures à la température ordinaire inactive de moitié 2 unités de kallikréine.

Ce produit possède une activité antiplasminique.

Les ampoules du commerce sont de 5 ml et contiennent 5.000 unités IK.

L'activité antienzymatique de 1 ml d'Iniprol équivaut à 15 ml de Zymofren.

d) L'acide epsilon aminocaproïque (EACA) :

Cet acide aminé de formule : NH_2 - $(CH_2)_5$ - COOH est un puissant inhibiteur compétitif de l'activation du plasminogène. Il n'a d'action sur la plasmine qu'à de fortes concentrations.

Son utilisation est efficace en clinique dans le traitement des hémorragies par activité lytique exagérée, dans différents états pathologiques tels que : cirrhoses, leucémies, cancer de la prostate, chirurgie urologique, chirurgie à cœur ouvert.

L'acide epsilon aminocaproïque peut être administré par voie buccale ou par voie intraveineuse. Il se distribue dans les espaces extracellulaires, pénètre dans les globules rouges et dans les autres cellules de l'organisme. Il s'élimine rapidement par voie rénale sans modification de structure.

Il est le plus souvent utilisé à titre préventif. Un taux efficace est maintenu par perfusion intraveineuse continue ou par injection de 1 gramme par heure après une dose d'attaque de 4 à 5 grammes. Des doses beaucoup plus élevées seraient nécessaires pour obtenir une action antiplasminique.

Ce produit est peu toxique en dehors de quelques troubles digestifs qui ont été signalés.

En cas d'insuffisance rénale, il faut l'employer avec précaution pour éviter un taux sanguin trop élevé.

LE DOSAGE DU PLASMINOGENE

CHAPITRE I

DIFFERENTES TECHNIQUES DE DOSAGE DU PLASMINOGENE

Il est intéressant de pouvoir doser le plasminogène au cours de divers états fibrinolytiques. Plusieurs techniques ont été proposées. Elles diffèrent :

1) Par le fait qu'elles opèrent sur les euglobulines plasmatiques ou sur le plasma.
2) Par le mode d'élimination des inhibiteurs de la fibrinolyse, qui varie selon qu'on précipite les euglobulines ou que l'on fait agir l'acide chlorhydrique (pH = 1,8) puis la soude (pH = 7,6) pour détruire les inhibiteurs et l'activateur.
3) Par le mode d'activation du plasminogène, qui peut consister en l'utilisation de la streptokinase, de l'urokinase, du glycérol ou en l'activation spontanée.
4) Par le substrat, qui peut être la fibrine ou la fibrine dépourvue de plasminogène par action de la chaleur (plateaux de fibrine chauffés), la caséine, les substrats synthétiques.

Mais ces méthodes présentent souvent des difficultés techniques et donnent des résultats différents selon qu'elles emploient le fibrinogène humain ou bovin (dépourvu de proactivateur). D'autre part, il est souvent difficile d'établir une correspondance entre les méthodes fibrinolytiques et caséinolytiques.

1) Méthodes utilisant les plateaux de fibrine

a) Méthode de Blix [25] :

Les euglobulines sont préparées à partir de 1 ml de plasma dilué au 1/20^{e} dans une solution d'acide acétique à 0,0078 % (v/v). La précipitation s'effectue pendant 10 minutes à 4°C, puis le précipité est repris par 1 ml de solution tampon.

Pour doser le plasminogène, cette solution d'euglobulines est testée en présence d'urokinase sur plateaux de fibrine chauffés. D'après l'auteur, le taux maximal d'activité fibrinolytique sur plateaux de fibrine chauffés est obtenu lorsque les euglobulines sont précipitées à pH = 6,4, tandis que le taux de plasminogène est maximal pour un pH compris entre 5,2 et 6.

Autres méthodes de précipitation des euglobulines :

— Technique de Milstone [99] : le sérum est dilué au 1/20e dans l'eau distillée, puis les euglobulines sont précipitées par addition de 0,32 ml d'acide acétique à 1 % (v/v).

— Technique de Von Kaulla et Schultz [72] : le plasma est dilué au 1/16e dans l'eau distillée et les euglobulines sont précipitées par action du gaz carbonique pendant 4 minutes (pH = 5,5).

Ratnoff [122] a trouvé une précipitation maximale du plasminogène dans le plasma dilué à pH = 5,2.

Pour Kowalski et coll. [85], 100 % de plasminogène plasmatique précipitent avec les euglobulines à pH = 5,2.

b) Méthode proposée par Mullertz [108].

Les euglobulines sont précipitées par l'acide acétique à 1 % (v/v) (pH = 5,3), puis la solution d'euglobulines est essayée sur plateaux chauffés en présence de streptokinase.

2) Méthodes utilisant la caséinolyse

a) Technique de Remmert et Cohen [123], modifiée par Alkjaersig et coll. [5].

Le principe de cette technique est fondé sur l'évaluation spectrophotométrique de la tyrosine libérée par la plasmine à partir de la caséine (action protéolytique de la plasmine). Le fait d'opérer sur les euglobulines plasmatiques élimine les inhibiteurs.

Selon Alkjaersig et coll., le taux normal de plasminogène est de 3,8 de leurs unités caséinolytiques par millilitre de plasma.

b) Divers auteurs ont apporté des modifications à ce principe. Les méthodes caséinolytiques sont longues et délicates mais elles présentent l'avantage d'être précises. La difficulté est d'obtenir une caséine substrat bien soluble dans les conditions de l'essai. Les techniques de solubilisation dénaturent plus ou moins la protéine et conduisent à des substrats différents d'une préparation à l'autre.

D'autre part, on peut reprocher à ces méthodes de mesurer une activité protéasique sur le substrat artificiel qu'est la caséine, celle-ci ne donnant pas forcément des résultats parallèles à l'activité fibrinolytique qui nous intéresse en premier lieu.

3) Méthodes utilisant les substrats synthétiques

— Hydrolyse du BAME (benzoyl arginine methyl ester). La destruction préalable des inhibiteurs est inutile.
— Hydrolyse du TAME (tosyl arginine methyl ester).

C'est une mesure acidi-alcalimétrique d'activité estérasique qui permet une évaluation facile (pH constant). La quantité de soude consommée par unité de temps donne le nombre de molécules hydrolysées par unité de temps.

Mais cette technique n'est pas très spécifique et assez délicate.

4) Méthodes utilisant la fibrine comme substrat

a) Technique de Niewiarowski [112] :

Elle consiste à préparer d'abord des dilutions(1/2 au $1/32^{e}$) des euglobulines témoins et des euglobulines à essayer. Les euglobulines pures et diluées sont ensuite mises en présence d'une solution à 5 p. 1000 (p/v) de fibrinogène préparé selon Kekwick, de streptokinase et coagulées par la thrombine. Les temps de lyse étant notés, les résultats du malade sont comparés avec la courbe fournie par des dilutions témoins.

Cette technique est rapide mais n'est pas précise.

b) Technique de Johnson et Tilett [69] :

Des dilutions logarithmiques de plasma sont mises en présence de tampon phosphaté, de fibrinogène bovin ou humain, de streptokinase et coagulées par la thrombine.

Les temps de lyse en fonction des concentrations, reportés sur papier bilogarithmique, sont disposés sur une ligne droite.

La dilution pour laquelle la lyse se produit en 30 minutes est prise comme unité.

Cette méthode présente l'avantage d'être simple mais elle dose en fait le plasminogène et le proactivateur.

c) La méthode que nous proposons est un dosage indirect qui consiste en une étude de la fibrinolyse après avoir neutralisé la plasmine (plasminogène activé par la streptokinase) par un inhibiteur stoechiométrique rigoureusement titré (inhibiteur de Kunitz).

CHAPITRE II

DOSAGE DU PLASMINOGENE PLASMATIQUE PAR L'ETUDE DE LA FIBRINOLYSE EN PRESENCE D'INHIBITEUR DE KUNITZ

La première condition requise pour évaluer le plasminogène est de permettre une transformation complète de celui-ci en plasmine : la quasi-totalité du plasminogène précipitant avec les euglobulines plasmatiques alors que les inhibiteurs (antiactivateurs et antiplasmines) restent dans le surnageant, on aura intérêt à opérer sur cette fraction.

I. — PRINCIPE

Précipitation du plasminogène avec les euglobulines plasmatiques, activation du plasminogène en plasmine par la streptokinase et dosage indirect de la plasmine par l'étude de la dissolution d'un caillot de fibrine en présence de quantités variables d'un inhibiteur stoechiométrique rigoureusement titré (inhibiteur de Kunitz).

II. — PRÉLÈVEMENT

Solution anticoagulante :

— Citrate de sodium cristallisé avec 2 H_2O	3,1 g
(ou citrate de sodium cristallisé avec 5,5 H_2O .	3,8 g)
— Eau distillée Q.S.P.	100 ml

Cette solution doit être de préférence répartie dans des ampoules qu'on stérilise à l'autoclave.

Dans un tube jaugé à 10 ml et contenant 1 ml de la solution anticoagulante, recueillir le sang prélevé dans une veine du pli du coude à l'aide d'une aiguille à plateau. Mélanger par retournement, centrifuger pour obtenir le plasma destiné au dosage, ce plasma pouvant sans inconvénient être conservé à — 20°C.

Remarque : on peut à défaut de la solution de citrate trisodique utiliser dans les mêmes proportions une solution 0,1 M d'oxalate de sodium ou encore le mélange de WINTROBE desséché, en tenant compte dans ce dernier cas de l'absence de dilution du plasma.

III. — RÉACTIFS

1) Solution aqueuse à 9 g par litre de chlorure de sodium.

2) Solution aqueuse de citrate trisodique identique à celle utilisée pour le prélèvement.

3) Tampon de MICHAELIS (pH = 7,3).

— Préparer d'abord la solution suivante :

— Véronal sodique	7,36 g
— Acétate de sodium	4,86 g
— Eau distillée	250 ml

— Y ajouter ensuite :

— Solution aqueuse de chlorure de sodium à 4,25 g pour 100 ml	200 ml
— Acide chlorhydrique 0,1 N	217 ml
— Eau distillée	683 ml

— Ajuster éventuellement le pH à 7,3 ± 0,1.

— Conserver à + 4°C.

4) Fibrinogène bovin, préparé suivant la technique de KEKWICK et coll. [78]. Il ne contient que des traces de plasminogène.

5) Inhibiteur de KUNITZ (Iniprol CHOAY).

6) Streptokinase (CHOAY).

7) Thrombine (Thrombase ROUSSEL).

Les solutions et dilutions des réactifs 4, 5, 6 et 7 doivent être préparées au moment du besoin.

IV. — MODE OPÉRATOIRE

1) Précipitation des euglobulines

a) Par le gaz carbonique, suivant Von Kaulla et Schultz [72].

— Mélanger dans une fiole d'Erlenmeyer :

— Eau distillée ..... 15 ml
— Plasma ..... 1 ml

— Faire arriver le CO_2 au-dessus de la surface du liquide pendant 4 minutes exactement (chronomètre) en agitant et en évitant la formation de bulles. Le pH du milieu tombe ainsi aux environs de 5,5 (5,35 à 5,65), ce qui produit la précipitation des euglobulines. L'emploi de tubes en Y permet de précipiter simultanément les euglobulines de 2 à 4 plamas différents.

— Centrifuger dans un tube cônique pendant 5 minutes à grande vitesse (8 à 10.000 G environ).

— Rejeter le liquide surnageant et essuyer soigneusement les parois intérieures du tube à l'aide de papier filtre.
Dissoudre complètement le culot de précipitation dans 1 ml de la solution suivante :

— Tampon de Michaelis ..... 1 ml
— Réactif 1 (solution de chlorure de sodium) ..... 2,5 ml
— Réactif 2 (solution de citrate de sodium) ..... 0,5 ml

b) Lorsque l'on ne dispose pas de source de gaz carbonique, ajouter à la dilution aqueuse de plasma introduite directement dans le tube à centrifuger une dilution aqueuse à 1 p. 100 en volume d'acide acétique (0,32 à 0,35 ml) pour amener le pH entre 5,35 et 5,65 (vérification au pH mètre).

La précipitation des euglobulines étant plus lente qu'avec le gaz carbonique, mettre le tube 30 minutes à + 4°C avant la centrifugation.

2) Préparation des réactifs

a) Fibrinogène :

Dissoudre 50 mg de fibrinogène dans 10 ml de tampon de Michaelis au bain-marie à 37°C, en agitant de temps en temps.

b) Dilutions d'inhibiteur de Kunitz (Iniprol) :

Préparer d'abord une solution-mère à 4.000 unités ST [134] par ml :

— Iniprol à 200.000 unités ST par ml ..... 0,1 ml
— Tampon de Michaelis ..... 4,9 ml

A partir de cette solution-mère, préparer une série de dilutions conformément au *Tableau I* (les chiffres indiquent des ml).

Tableau I

	1/5e	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e
Tampon de Michaelis	4	3	3,5	4	1	1	1	1	1
Solution-mère pure	1	0,5	0,5	0,5					
Solution-mère diluée :									
— au 1/5e					1	0,5			
— au 1/10e							1		
— au 1/20e								1	
— au 1/40e									1

Placer ces dilutions dans un bain de glace.

c) Solution de streptokinase :

Elle est faite dans le tampon de Michaelis et doit titrer 500 unités Christensen par millilitre.

Cette solution est placée dans un bain de glace et ne doit pas être conservée plus de 3 à 4 heures.

d) Solution de thrombine :

Cent unités Mellanby de thrombine (une ampoule de Thrombase Roussel) sont dissoutes dans 5 ml de réactif 1 (soluté de chlorure de sodium), soit 20 unités par ml. L'unité Mellanby correspond à environ 0,5 unité NIH.

3) Epreuve de fibrinolyse

La réaction s'opère au bain-marie à 37°C dans 10 tubes à hémolyse.

Introduire dans l'ordre indiqué ci-dessous (partie inférieure du *Tableau II*), et en agitant après chaque addition, les réactifs cités.

Tableau II

Dilutions de la solution-mère d'Iniprol	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol	Sans euglobuli Sans Inipro (Témoin des réactifs)
Soit en unités ST d'Iniprol	571	500	444	400	266	200	100	50	0	
Fibrinogène à 5 p. 1.000	0,3 ml	——	——	——	——	——	——	——	—>	0,3 ml
Tampon de Michaelis									0,1 ml	0,2 ml
Iniprol à dilutions croissantes ..	0,1 ml	des dilutions correspondantes en commençant par la plus grande ——	——	——	——	——	——	—>	0,1 ml	—
Euglobulines	0,1 ml	——	——	——	——	——	——	—>	0,1 ml	—
Streptokinase (500 u/ml)	0,1 ml	——	——	——	——	——	——	——	—>	0,1 ml
Thrombine	0,1 ml	——	——	——	——	——	——	——	—>	0,1 ml

Déclencher le chronomètre au moment de la coagulation puis examiner comment se déroule la lyse dans chacun des tubes pendant 60 minutes. Au bout de 60 minutes, noter la dilution la plus grande d'Iniprol pour laquelle le caillot n'est pas *totalement* lysé.

REMARQUE

Tout début de lyse se manifestant dans le tube témoin indiquerait que les réactifs sont impropres à l'emploi.

V. — RÉSULTATS

Ils peuvent être exprimés de deux façons différentes :

a) En pourcentage par rapport a la normale :

Une étude statistique effectuée sur 111 individus normaux nous a permis de situer la moyenne arithmétique du taux de plasminogène plasmatique défini par le nombre d'unités ST inhibant complètement la plasmine produite à partir d'un millilitre de plasma. Elle est de 500 unités (dilution au 1/8e de la solution-mère d'Iniprol). Si nous assignons la valeur 100 au témoin pour lequel le caillot n'est pas lysé en 60 minutes pour cette dilution d'Iniprol, nous pouvons évaluer le taux de plasminogène des malades en pourcentage par rapport à ce témoin. Cette valeur 100 est fixée une fois pour toutes étant donné que la solution d'inhibiteur est stable et rigoureusement titrée ; il en résulte qu'il n'est pas nécessaire d'avoir à recourir chaque jour à un témoin.

Ceci étant, selon les résultats obtenus (dilution d'Iniprol la plus grande pour laquelle le caillot n'est pas lysé totalement en 60 minutes) on peut établir le tableau de correspondance approximative (*Tableau III*), en arrondissant les résultats.

Tableau III

Dilutions d'Iniprol	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/30e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol
Résultats en pourcentage par rapport à la normale (la dilution au 1/8e, soit 500 unités ST, étant prise comme valeur 100)	115 %	100 %	90 %	80 %	50 %	40 %	30 %	20 %	10 %	Traces ou < 10 %

Les valeurs trouvées chez les 111 individus normaux s'échelonnent entre 80 et 115 % de plasminogène (moyenne 100 % ± 20).

b) En milliunités d'activité enzymatique (A.E.) de plasmine :

En sachant que 800 unités ST d'Iniprol neutralisent 3.000 unités d'A.E., on en déduit les valeurs approximatives suivantes pour un individu normal :

— Plasma citraté au 1/10e .. 1.500 à 2.200 milliunités d'A.E.
— Plasma pur ..... 1.700 à 2.500 milliunités d'A.E.

La correspondance entre unités enzymatiques et pourcentages est indiquée dans le *Tableau IV*.

Tableau IV

Dilutions d'Iniprol	1/6e	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol
Unités ST/ml	666	571	500	444	400	266	200	100	50	0
Milliunités d'A.E. de plasmine	2.497	2.141	1.875	1.665	1.500	997,5	750	375	187,5	0
Pourcentage par rapport à la normale	135 %	115 %	100 %	90 %	80 %	50 %	40 %	20 %	10 %	Traces ou < 10 %

REMARQUES

1) *Cas particulier des taux de plasminogène bas :* Une concentration trop importante en streptokinase possède un effet inhibiteur sur la réaction d'activation.

Un certain nombre d'essais que nous présenterons dans le prochain chapitre, nous ont permis de préciser les concentrations optimales de streptokinase à utiliser.

Alors que pour les plasmas normaux (ou ayant un taux supérieur à 50 % de plasminogène), la dose de 500 unités CHRISTENSEN par ml assure une activation totale du plasminogène sans effet inhibiteur, il convient d'opérer autrement pour les plasmas ayant un taux de plasminogène inférieur à 50 % (temps de lyse supérieur à 60 minutes pour une dilution d'Iniprol égale ou supérieure à 1/15e). On peut pour cela remplacer la solution de streptokinase à 500 unités par une solution d'urokinase à 1.000 unités PLOUG par millilitre, qui n'a pas d'activité inhibitrice, mais il est assez difficile de se procurer ce réactif. On peut aussi et plus simplement utiliser :

— soit une solution de streptokinase à 250 unités CHRISTENSEN par millilitre,

— soit la solution habituelle (500 unités CHRISTENSEN par millilitre), mais avec une concentration double en euglobulines. On prépare pour cela deux précipités d'euglobulines comme il a été indiqué plus haut ; on redissout chacun d'entre eux avec 0,5 ml (au lieu de 1 ml) de tampon de MICHAELIS citraté et on mélange les deux solutions. Les résultats obtenus au cours de l'épreuve de fibrinolyse sont ensuite divisés par deux.

2) Cette technique appliquée parallèlement au plasma et aux euglobulines homologues (sans adjonction du réactif fibrinogène) renseigne sur l'activité des inhibiteurs plasmatiques de la fibrinolyse.

CHAPITRE III

MISE AU POINT DES CONDITIONS TECHNIQUES

Notre première expérience a consisté à essayer de mettre en présence les réactifs suivants :

— Fibrinogène (selon KEKWICK) à 5 ‰.
— Iniprol (dilutions diverses).
— Euglobulines (précipitées par le CO_2).
— Streptokinase (100 unités/ml).
— Thrombine (20 unités/ml)

de manière à obtenir un système de coagulation sur lequel il serait possible d'étudier la fibrinolyse (produite par la plasmine) en présence de quantités variables d'un inhibiteur de titre connu.

1) Ordre d'introduction des différents réactifs : l'Iniprol introduit avant les euglobulines inhibe immédiatement tout début de fibrinogénolyse (ce qui pourrait se produire si les euglobulines étaient d'abord mises en contact avec le fibrinogène). On ajoute ensuite la streptokinase puis le plus rapidement possible la thrombine de manière à éviter que la streptokinase n'agisse trop vite avant la coagulation et ne provoque ici encore un début de fibrinogénolyse qui fausserait les résultats ultérieurs (fibrinolyse).

2) Volumes sous lesquels les réactifs sont introduits : nous avons choisi 0,3 ml pour la solution de fibrinogène et 0,1 ml pour les autres réactifs.

1) Détermination des concentrations d'Iniprol à utiliser

A partir d'une solution d'Iniprol à 200.000 unités ST par ml, nous avons préparé une solution-mère à 20.000 unités par ml dans du tampon de MICHAELIS. Puis nous avons étudié le temps de lyse

des caillots obtenus en présence de streptokinase à 100 unités par ml et des dilutions suivantes de la solution-mère d'Iniprol (*Tableaux V* et *VI*) :

(Les chiffres qui figurent dans les tableaux que nous présentons dans les chapitres III et IV indiquent des temps de lyse, exemple : 8 = 8 minutes ; 7,30 = 7 minutes 30 secondes ; 3 h = 3 heures.)

Tableau V

Solution mère au 1/5e	1/10e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol Sans euglobulines	Sans Inipro
<———			> 20 h	< 20 h	> 20 h	8

Tableau VI

Solution mère au 1/5e	1/10e	1/20e	1/50e	1/100e	Sans Iniprol
<———	> 24 h	> 2 h < 20 h	7,30	3	1

Ces concentrations étant trop fortes, nous avons préparé une solution-mère à 4.000 unités par ml que nous avons ensuite diluée de la manière suivante (*Tableaux VII* et *VIII*) :

Tableau VII

1/5e	1/10e	1/20e	1/30e	1/40e	1/50e	1/60e	1/100e	Sans Iniprol
		> 3 h	160	46	35	19	18	15

Tableau VIII

1/5e	1/20e	1/30e	1/40e	1/50e	1/60e	1/80e	1/90e	1/100e	Sans Inipro
	> 2 h	22	9	8,15	7,30	6,30	5,45	4,30	3

La solution-mère à 4.000 unités par ml a été définitivement adoptée. Par la suite, nous avons utilisé des dilutions allant du 1/7e au 1/80e car l'emploi de la dose optimale de streptokinase donnait des temps de lyse plus courts. Pour la plupart des euglobulines témoins, la lyse n'est pas totale en 60 minutes au niveau des dilutions d'Iniprol comprises entre le 1/6e et le 1/10e. Nous avons donc essayé d'obtenir plus de précision dans nos résultats en rapprochant les dilutions dans cette zone.

Finalement les dilutions utilisées couramment dans la technique sont : solution-mère à 4.000 unités par ml diluée au 1/7e, 1/8e, 1/9e, 1/10e, 1/15e, 1/20e, 1/40e, 1/80e.

Nous nous limitons à ces 8 dilutions car nous avons au départ 1 ml de solution d'euglobulines, mais il est bien évident qu'en précipitant une quantité plus importante d'euglobulines plasmatiques, on peut en augmentant le nombre des dilutions d'Iniprol, obtenir une plus grande précision dans la zone choisie.

(Dans chaque expérience, nous ne présentons ici qu'un seul exemple pris parmi les divers plasmas que nous avons expérimentés.)

2) Essai en vue de faciliter l'appréciation de la lyse

Pour tenter de faciliter la lecture de la lyse, nous avons en même temps essayé d'introduire un colorant dans le système de coagulation, puis nous avons injecté la thrombase à l'aide d'un rhéomètre. Les petites bulles d'air formées par ce dernier procédé, enserrées dans le réseau de fibrine, montent à la surface lorsque le caillot est lysé, ce qui permet de suivre la lyse en observant le tube sans le sortir d'un bain-marie transparent.

Nous avons essayé le bleu de toluidine et le rouge Congo.

Exemple d'une étude faite sur un même plasma témoin (T), (SK = 100 unités par ml) *Tableau IX* :

Tableau IX

Dilutions d'Iniprol	1/20e	1/30e	1/40e	1/50e	1/60e	1/80e	1/90e	1/100e	Sans Iniprol
T	38	23	17	17	15	15	14	12	10
T + bleu de toluidine à 0,5 p. 1.000.	40	17	17	16	16	15	14	10	10
T + rouge Congo à 1 p. 1.000	> 50	29	24	23	15	15	13	12,30	10
T + rouge Congo à 1 p. 2.000	> 50	40	25	22	15	15	13	13	10

Le bleu de toluidine ne donnant pas une lecture plus facile, (le caillot ne reste pas plus coloré que le liquide surnageant) nous avons poursuivi les expériences avec le rouge Congo (*Tableau X*).

Tableau X

	1/20e	1/30e	1/40e	1/50e	1/60e	1/80e	Sans Iniprol
T	> 80	60	33	25	22	19	12
T + rouge Congo à 1 p. 1.000		> 80	58	32	22,30	19	12

Nous constatons ici encore, qu'en présence de rouge Congo les temps de lyse sont très allongés par rapport aux temps obtenus avec les mêmes euglobulines en l'absence de ce colorant.

Cet effet inhibiteur nous a donc fait abandonner l'emploi de cette substance qui cependant rendait le caillot très visible.

L'emploi du rhéomètre ne nous a pas non plus paru satisfaisant, car nous avons pu constater que lorsque les bulles avaient disparu, il restait parfois en surface un petit caillot difficilement perceptiblle si le tube restait immobile. Or, dans cette technique, nous notons le temps de lyse totale, ce qui indique que la quantité de plasmine présente est supérieure à la quantité connue d'Iniprol introduite dans le tube.

Les artifices que nous avons étudiés ne nous ont pas permis d'augmenter la précision de la lecture et même, pour certains, ont apporté des perturbations peu souhaitables. En fait, la lecture de lyse ou d'absence de lyse est relativement aisée.

3) Détermination de la quantité de fibrinogène à 5 p. 1000 à introduire dans le système de coagulation

Le fibrinogène préparé par la méthode de Kekwick est un fibrinogène bovin ne renfermant que des traces de plasminogène.

Nous avons étudié l'aspect du caillot et les temps de lyse, en présence de quantités différentes de fibrinogène à 5 ‰. Les euglobulines ont été précipitées par le gaz carbonique et la streptokinase utilisée à la concentration de 500 unités par ml ; exemple (*Tableau XI*) :

Tableau XI

	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol
Avec 0,1 ml de fibrinogène à 5 p. 1.000	> 60	5,30	4	3	3	3	3	3
Avec 0,2 ml de fibrinogène à 5 p. 1.000	> 60	40	4	3	3	3	3	3
Avec 0,3 ml de fibrinogène à 5 p. 1.000		> 60	12	5,30	5	5	4,30	3
Avec 0,4 ml de fibrinogène à 5 p. 1.000			> 60	12	5	5	5	5

La quantité de 0,4 ml est trop importante.

Les caillots obtenus avec 0,1, 0,2 et 0,3 ml de solution de fibrinogène étant utilisables, nous avons choisi d'employer 0,3 ml car la lecture de la lyse est aisée et les temps obtenus satisfaisants.

4) Essais effectués avec une technique proche de la précédente

Cette technique consiste à activer dans un premier temps le plasminogène en plasmine, puis dans un deuxième temps à étudier l'activité fibrinolytique de cette plasmine en présence de quantités croissantes d'Iniprol.

Le précipité d'euglobulines n'est pas redissout dans la solution tampon, mais dans celle de fibrinogène à 5 ‰. La solution obtenue est additionnée d'un volume égal de streptokinase à 100 unités par ml, puis coagulée par 0,20 ml de thrombine à 20 unités par ml.

La solution de plasmine est obtenue après lyse totale du caillot survenant entre 2 et 7 minutes.

Cette dernière solution est répartie à raison de 0,3 ml dans des tubes à hémolyse renfermant 0,3 ml de fibrinogène à 5 ‰.

Après addition de doses croissantes d'inhibiteur de Kunitz et coagulation par 0,1 ml de thrombine à 20 unités par ml, les temps de lyse sont notés.

Résultats obtenus en comparant les deux techniques (*Tableaux XII* et *XIII*) :

Tableau XII

	1/30e	1/40e	1/50e	1/60e	1/100e	Sans Iniprol
T1 technique initiale	> 60	46	35	19	18	15
» modifiée		> 60	58	30	23	15,30

Tableau XIII

	1/20e	1/30e	1/40e	1/50e	1/80e	1/100e	Sans Iniprol
T2 technique initiale	> 60	26	19,30	16	15	12	10
» modifiée ...	> 60	58	56	54	45	25	14
T3 technique initiale			> 60	14	12,30	10,30	9
» modifiée ...			> 60	57	55	34	31
T4 technique initiale	> 60	54	11	10	8	6,15	4,45
» modifiée ...			> 60	55	42	18	4,45
Cirrhose technique initiale						> 60	34,30
» modifiée							> 60

La technique modifiée donnant des temps de lyse beaucoup plus longs que ceux de la technique initiale par suite de la perte d'activité au cours du premier temps, nous avons préféré poursuivre notre étude de la technique en un temps.

5) Comparaison entre l'utilisation du gaz carbonique et de l'acide acétique pour la précipitation des euglobulines

Nous avons dosé parallèlement le plasminogène sur les euglobulines précipitées d'une part par le CO_2 pendant 4 minutes, et d'autre part, par l'acide acétique à 1 % (Ac. Acét.).

Voici quelques exemples de temps de lyse obtenus avec différents témoins (Tx...), (SK = 100 unités par ml) *Tableau XIV.*

Tableau XIV

		1/6e	1/8e	1/10e	1/25e	1/50e	1/75e	Sans Iniprol
1	CO_2		> 60	9	3,25	3,15	3	2,30
	Ac. Acét.		> 60	36	4,25	3,15	3	2,30
2	CO_2		> 60	48	30,30	11,10	4,45	2,30
	Ac. Acét.			> 60	18	11,10	4,30	2,30
3	CO_2	> 60	9	8,30	2,30	2	1,45	1,30
	Ac. Acét.		> 60	26	11,30	8	7,45	1,30
4	CO_2		> 60	47	6,40	6,30	6	5,45
	Ac. Acét.				> 60	21	16	15,30
5	CO_2		> 60	4,15	2,15	2	1,40	1,10
	Ac. Acét.		> 60	9,5	4,10	4	4	2,55

Si l'on recueille immédiatement le précipité euglobulinique, il apparaît que la précipitation par le CO_2 a entraîné une plus grande quantité de plasminogène que la précipitation par l'acide acétique.

Nous avons effectué 91 mesures de pH (pH mètre Biolyon) des suspensions obtenues après action du CO_2 pendant 4 minutes exactement (chronomètre).

Les résultats se situent entre pH = 5,35 et 5,7 avec un maximum à pH = 5,5 (*fig. 1*).

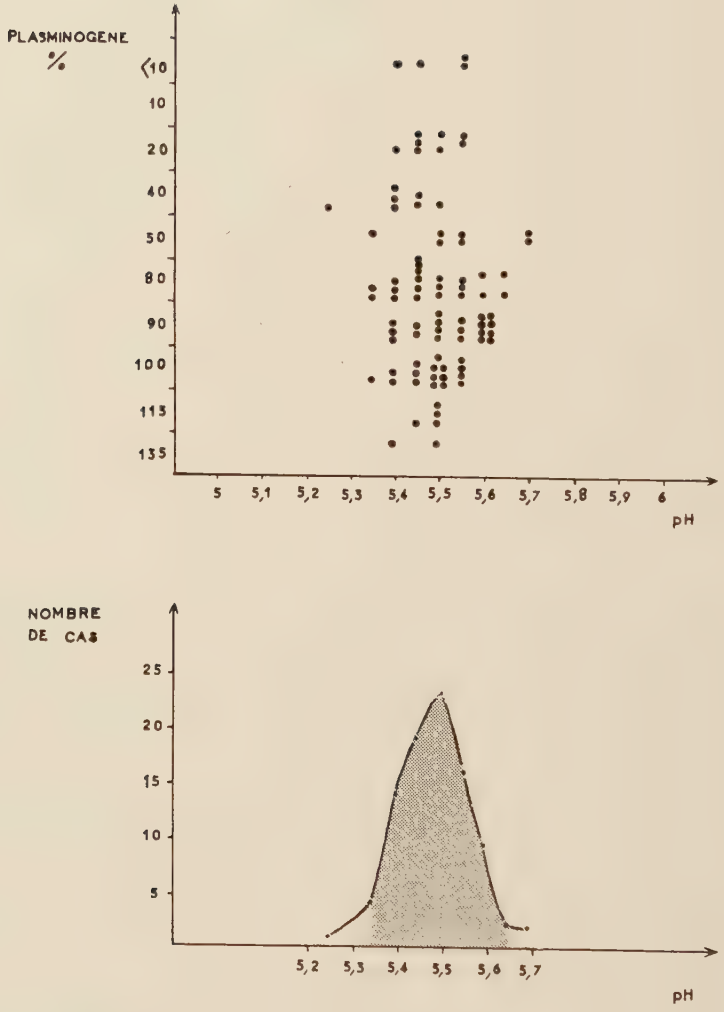


Figure 1

Nous avons alors comparé à nouveau les dosages faits avec des euglobulines précipitées soit par le gaz carbonique, soit par l'acide acétique en prenant les pH des deux suspensions.

Exemple (SK 1.000 u/ml) (*Tableau XV*) :

Tableau XV

	pH	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	Sans Iniprol
CO_2	5,55	> 60	23	13	< 4	< 4	< 4	< 4
Ac. Acét. 0,32 ml	5,75	> 60	28	23	6	< 4	< 4	< 4
CO_2	5,55		> 60	11	6	< 5	< 5	< 5
Ac. Acét. 0,32 ml	5,85		> 60	10	6	< 5	< 5	< 5

Puis, en ajustant le pH par addition d'acide acétique, c'est-à-dire en introduisant 0,3 ml ou plus d'acide acétique de manière à avoir le même pH par les deux modes de précipitation (*Tableau XVI*) :

Tableau XVI

	pH	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	Sans Iniprol
CO_2	5,45	> 60	20	8,30	5	4,45	4,30	3
Ac. Acét. 0,3 ml	5,45		> 60	26,30	20	13	7,30	3
CO_2	5,50	> 60	19	15	8	8	6,30	2,30
Ac. Acét. 0,35 ml	5,50		> 60	18,30	5,30	4	3	2,30

La précipitation par 0,32 ml d'acide acétique n'amène pas toujours le pH des suspensions d'euglobulines aux zones de pH obtenues par l'action du CO_2. Plus ce pH se situe au-dessus de 5,7, plus le taux de plasminogène trouvé est bas. Il faut donc ajouter la quantité d'acide acétique nécessaire pour obtenir le même pH que celui obtenu à l'aide du CO_2, en vérifiant au pHmètre.

Nous avons préféré employer le CO_2 parce que l'on se trouve toujours dans la même zone de pH, et que d'autre part la précipitation des euglobulines est immédiate, alors qu'elle est plus lente avec l'acide acétique. Il est donc recommandé quand on utilise l'acide acétique d'attendre au moins 30 minutes à 4°C entre l'acidification et la centrifugation.

Après action du CO_2, nous avons essayé de doser le plasminogène après avoir fait séjourner les suspensions d'euglobulines 0, 10, 20 et 30 minutes à 4°C. Nous avons trouvé peu de différences entre les divers échantillons (*Tableau XVII*).

Tableau XVII

	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Inipro
T1 après 0 mn à 4°C	> 60	44	7	3,30	3,30	3	3
» 10 »	> 60	35	7	3,30	3,30	3	3
» 20 »	> 60	43	6,30	4	4	3	3
» 30 »	> 60	15	8	4	4	3	3
T2 après 0 mn à 4°C		> 60	9,30	8	5,30	< 5	< 5
» 10 »		> 60	9	8	6,30	< 5	< 5
» 20 »	> 60	40	9	7	6	< 5	< 5
» 30 »	> 60	36	9	6	5,30	< 5	< 5
T3 après 0 mn à 4°C		> 60	28	20	6	< 6	< 6
» 10 »		> 60	28	20	6	< 6	< 6
» 20 »		> 60	34	18	6	< 6	< 6
» 30 »		> 60	34	7,30	6	< 6	< 6

6) L'activation du plasminogène

a) Activation par la streptokinase (SK) :

Des doses trop importantes de streptokinase exerçant un effet inhibiteur, il n'est donc pas possible d'opérer avec un large excès. Nous avons recherché la quantité optimale de streptokinase pour laquelle l'activation du plasminogène est maximale.

La dose optimale de streptokinase à ajouter à une solution d'euglobulines est celle qui provoque le temps de lyse le plus court possible.

Les dilutions de streptokinase sont faites dans le tampon de Michaelis (pH = 7,3) et placées dans un bain de glace. Elles ne doivent pas être conservées plus de 3 à 4 heures.

Les *Tableaux XVIII, XIX* et *XX* indiquent les temps de lyse obtenus avec des euglobulines témoins (précipitées par le CO_2) en présence de quantités variables de streptokinase.

Tableau XVIII

SK (u/ml) ↓	1/15e	1/20e	1/30e	1/40e	1/50e	1/60e	Sans Iniprol
2.000	<——— pas de lyse ———						——— >
1.000	> 60	18,30	10	9	9	4	3
1.000	6,30	5,45	5	4	3,40	3,30	3
500	9	8	6,30	5,30	4	3,30	3
100	19	12,30	12	11,50	11,30	11	7,30
1.000	8	5	4,20	4	3,45	3,30	1
500	14	12	6,15	6	5,30	5	3
100		> 40	29	18,30	18	17,30	9

Tableau XIX

SK (u/ml) ↓	1/5e	1/10e	1/25e	1/50e	1/75e	Sans Iniprol
1.000	> 60	16	6	5,15	4	3,30
500	> 60	18,30	6,30	6	4	2,15
1.000	> 60	3,30	3	2,30	2	1
500	> 60	17,30	3	2,30	2	1

Tableau XX

SK (u/ml) ↓	1/6e	1/7e	1/8e	1/10e	1/25e	1/50e	Sans Iniprol
1.000		> 60	23	11	6	5	2,55
500		> 60	29	17	13	6	4,15
1.000	> 60	11,30	6,10	5,40	5,30	5,20	3
500	> 60	20,30	15	12	9,30	5,15	4

Ces mêmes essais ont été pratiqués avec des plasmas de sujets cirrhotiques ayant un taux très bas de plasminogène (*Tableau XXI*) :

Tableau XXI

SK (u/ml) ↓		1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	Sans Iniprol
Cirrhoses :								
1	1.000							> 60
	500						> 60	13
	100				> 60	38	23,30	11,30
2	1.000							> 60
	500							> 60
	100					> 60	42	15,30
3	500			> 60	40	10	5,45	5,30
	250			> 60	9	7	6,30	6

Dans l'expérience suivante, nous avons comparé le taux de plasminogène d'un sujet cirrhotique étudié d'une part avec plusieurs doses de streptokinase et d'autre part avec une double concentration d'euglobulines (Eu) (*Tableau XXII*) :

Tableau XXII

SK (u/ml) ↓		1/8e	1/9e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol
Cirrhose :								
4	100			> 60	29	18	12	8,30
	250			> 60	22	9,30	8	7,15
	500			> 60	60	9,45	9,30	9,15
	1.000				> 60	22,30	22	21,30
	1.000 (2 ml plasma → 1 ml Eu.) ..	> 60	20	12,20	12	11	8,30	8

Dans cet exemple qui illustre bien les diverses expériences que nous avons faites, nous pouvons remarquer d'une part que la concentration optimale de streptokinase est 250 unités par ml et d'autre part que le résultat donné par la double concentration d'euglobulines (SK 1.000 u par ml) est bien égale à deux fois le taux trouvé en présence de streptokinase à 250 u par ml avec les euglobulines simples.

CONCLUSIONS

Pour une solution de streptokinase à :

— 2.000 u/ml : La réaction est inhibée.

— 1.000 u/ml : L'activation du plasminogène est bonne pour les plasmas normaux, nettement inhibée pour des taux de plasminogène bas ($\leqslant 50\ \%$).

— 500 u/ml : Les résultats obtenus avec la streptokinase à 1.000 ou 500 u/ml n'étant pas très éloignés, il est préférable d'utiliser désormais la solution à 500 u/ml, qui convient aussi bien aux témoins qu'aux taux de plasminogène un peu abaissés.

C'est cette concentration que nous considèrerons comme *optimale* dans la majorité des cas et que nous emploierons d'emblée pour chaque dosage.

Mais il se peut que pour des taux de plasminogène extrêmement bas, cette dose soit trop forte et inhibe la réaction. Pour obtenir une activation totale, il faudra donc choisir une dose plus faible.

— 250 u/ml : Cette dose, insuffisante pour les taux normaux, sera utilisée quand le taux de plasminogène se révèle inférieur à 50 % dans le premier essai utilisant la concentration précédente.

— 100 u/ml : L'activation est insuffisante mais peut être optimale dans le cas d'un taux de plasminogène extrêmement bas.

b) Comparaison entre l'activation par la streptokinase et par l'urokinase :

Il n'a pas été signalé de rôle inhibiteur de larges quantités d'urokinase (UK). Nous avons recherché la dose minimale indispensable, ceci, surtout dans un but d'économie de ce réactif actuellement rare et coûteux, situation qui peut toutefois se modifier favorablement dans l'avenir.

Exemple (*Tableau XXIII*) :

Tableau XXIII

			1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Inipro
T1	UK	1.000 u/ml	> 60	60	30	12	10	6,30	6,30
	SK	1.000 u/ml		> 60	26	14	13	10	7,30
	UK	500 u/ml		> 60	31	23	11,30	10,30	10
	SK	500 u/ml	> 60	24	7	3,30	3,30	3,15	3
	UK	250 u/ml			> 60	38	24	23	20
	SK	250 u/ml	> 60	9	4,30	4	4	3,45	3,30
T2	UK	1.000 u/ml		> 60	14	12	10	6	6
	SK	500 u/ml		> 60	7	6,30	5	4	3
T3	UK	2.000 u/ml	> 60	39	13	9,40	7	7	7
		1.500 u/ml	> 60	42	14	9	7	7	7
		1.000 u/ml		> 60	21	12	7	7	7
	SK	500 u/ml		> 60	5	5	5	5	5
T4	UK	2.000 u/ml		> 60	14,30	8	7,30	7,30	5,30
		1.500 u/ml		> 60	14,30	14	7,30	7,30	6
		1.000 u/ml		> 60	18	17,30	10,30	10	7,30
	SK	500 u/ml		> 60	9	9	6	6	5,30
Cirrhose 1	UK	1.000 u/ml ...			> 60	30	11,30	11,30	11,30
	SK	500 u/ml ...			> 60	44	20	12	12
	SK	250 u/ml ...			> 60	9	8,30	8	8
Cirrhose 2	UK	1.000 u/ml ...			> 60	23	20	< 20	< 20
	SK	500 u/ml ...						> 60	< 60
	SK	250 u/ml ...				> 60	19,30	19	< 19

L'examen de ces résultats nous permet de conclure que les solutions d'urokinase * suivantes :

— 2.000 u/ml
— 1.500 u/ml
— 1.000 u/ml

} produisent une activation totale du plasminogène

— 500 u/ml
— 250 u/ml

} n'activent pas suffisamment le plasminogène

(*) Urokinase préparée par les Laboratoires Choay.

La dose d'urokinase que nous utiliserons dans la réaction sera donc de 1.000 u/ml, cette concentration convenant aussi bien aux taux normaux qu'aux taux bas de plasminogène.

c) En résumé, les doses d'activateur a utiliser dans la réaction sont :

— Pour les plasmas normaux : solution de streptokinase à 500 unités Christensen par millilitre (ou bien solution d'urokinase à 1000 unités Ploug par millilitre).

— Pour les taux de plasminogène inférieurs à 50 % (c'est-à-dire pour les temps de lyse supérieurs à 60 minutes correspondant à une dilution d'Iniprol au 1/15e ou à une dilution supérieure), il faut utiliser :

a) soit une solution de streptokinase à 250 unités Christensen par millilitre ;

b) soit une solution d'urokinase à 1.000 unités Ploug par millilitre ;

c) soit une solution de streptokinase à 500 unités Christensen par millilitre mais en employant les euglobulines à une double concentration. La précipitation des euglobulines est faite en double sur chaque fois 1 ml de plasma, mais chaque culot d'euglobulines est repris par 0,5 ml seulement de tampon de Michaelis citraté. En réunissant les deux solutions d'euglobulines, on obtient 1 ml de solution d'euglobulines préparé à partir de 2 millilitres de plasma. Il faut alors diviser le résultat obtenu par 2.

(Nous avons obtenu des résultats identiques en pratiquant simultanément les trois modes d'activation.)

7) Influence des différents anticoagulants utilisés pour le prélèvement sanguin sur le dosage du plasminogène

Le *Tableau XXIV* montre les résultats du dosage du plasminogène effectué sur des prélèvements provenant d'un même sujet, mais recueillis sur des anticoagulants différents. Le fait que les temps de lyse correspondant au prélèvement effectué sur mélange de Wintrobe desséché soient plus courts que les autres correspond au fait que les deux autres anticoagulants diluent le plasma et réduisent la quantité de plasminogène présent.

Tableau XXIV

	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	Sans Iniprol
Sérum	> 60	43	8	8	4	3
Plasma ← Mélange de Wintrobe ...	> 60	7,30	7	7	7	3
Plasma ← Citrate de Sodium		> 60	55	9	4	3
Plasma ← Oxalate de Sodium		> 60	27	25	3	3

Il est donc possible d'utiliser pour le prélèvement :
— soit la solution de citrate trisodique ;
— soit une solution 0,1 M d'oxalate de sodium ;
— soit le mélange de Wintrobe desséché mais en tenant compte de l'absence de dilution du plasma.

8) Influence des substances adsorbantes

Nous avons dosé le plasminogène d'un plasma témoin recueilli sur citrate de sodium, puis du même plasma recueilli sur citrate ou sur oxalate de sodium mais après l'avoir adsorbé sur les substances suivantes : bentonite (15 mg/ml de plasma), alumine (25 mg/ml de plasma), sulfate de baryum (100 mg/ml de plasma) (*Tableau XXV*).

Tableau XXV

	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol
Plasma citraté		> 60	55	9	4	3	3	3	3
Plasma citraté (bentonite)						> 60	57	21	20
Plasma citraté (alumine)			⩾ 60	48	3,30	3	3	3	3
Plasma oxalaté ($Ba\,SO_4$)			⩾ 60	16	3	3	3	3	3

Cet exemple montre que la bentonite a adsorbé une importante partie du plasminogène. Selon NIEWIAROWSKI [112], une concentration de 20 à 30 mg de bentonite par ml provoque l'adsorption du proactivateur et du plasminogène.

9) Influence de la conservation

Toutes les expériences que nous avons faites nous ont montré que le taux de plasminogène ne variait pas après congélation de plusieurs semaines à — 20°C des échantillons de plasma.

CHAPITRE IV

DISCUSSION

1) Comparaison avec la méthode à la caséine [103]

Nous avons dosé parallèlement avec MOURAD le plasminogène de plasmas normaux ou de malades avec les deux techniques, caséinolytique d'une part, fibrinolytique en présence d'inhibiteur de KUNITZ d'autre part. Sur 40 cas étudiés, nous avons obtenu 20 résultats concordants (dont 9 sont exactement concordants) et 20 discordants. La discordance ne se retrouvait pas toujours dans le même sens ; les échantillons de plasmas étant épuisés, nous n'avons pas pu entreprendre une expérimentation destinée à expliquer ces différences.

Nous pouvons toutefois remarquer que MOURAD précipitait les euglobulines par l'acide acétique, à pH = 5,8, et utilisait une dose standard de streptokinase alors que nous précipitions les euglobulines par le CO_2 à pH = 5,5 en employant des doses de streptokinase différentes selon qu'il s'agissait de taux normaux ou abaissés.

D'autre part, l'ion acétate a une action inhibitrice à certaines concentrations (VAIREL, non publié, communication verbale).

2) Précision de la méthode utilisant l'inhibiteur de Kunitz

Nous n'avons pas étudié particulièrement la précision de la méthode mais les différents dosages effectués sur chacun des plasmas ne nous ont pas donné pour le même échantillon de différence supérieure à plus ou moins 10 %.

3) Reproductibilité

Les résultats obtenus sont très reproductibles. Les dosages faits en double ou en triple donnent exactement les mêmes résultats. De même, ces résultats se retrouvent sans changement après congélation et décongélation des plasmas.

De plus, nous avons retrouvé exactement les mêmes taux avec des sangs prélevés à plusieurs jours d'intervalle chez les mêmes malades.

D'autre part, nous avons dosé des dilutions croissantes d'une préparition impure de plasminogène (*Tableau XXVI*). L'illustration graphique de nos résultats nous a donné sensiblement une droite (*fig. 2*).

Tableau XXVI

ilutions d'Iniprol Unités ST/ml	1/5e 800	1/6e 666	1/9e 444	1/10e 400	1/15e 266	1/40e 100	1/80e 50	Sans Iniprol 0
paration de plas- inogène :								
— 3 mg/ml ...	> 60	32	20	15	8	< 5	———	>
— 2 mg/ml ...			> 60	20	10	< 10	———	>
— 1,5 mg/ml ..				> 60	30	< 10	———	>
— 1 mg/ml ...						> 60	30	8
— 0,5 mg/ml ..							> 60	24

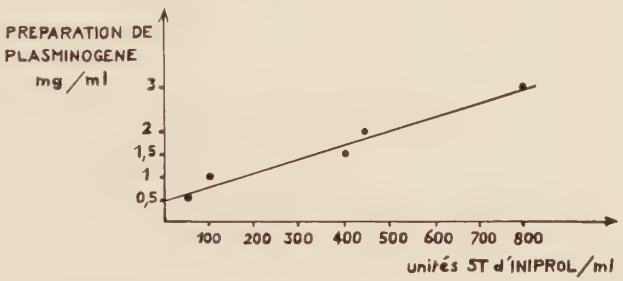


Figure 2

4) Variations du taux de plasminogène selon la substance thrombolytique administrée

Dans le traitement thrombolytique, l'administration rapide d'une dose d'attaque assez importante de streptokinase provoque une activation du plasminogène circulant dont le maintien d'un taux très bas évite la fibrinogénolyse. Cet épuisement du plasminogène a été mis en évidence par l'étude de la lyse sur plateaux de fibrine chauffés ou par le test à l'urokinase [129]. Nous avons étudié parallèlement l'évolution du taux de plasminogène par la technique utilisant l'inhibiteur de KUNITZ et par le test à l'urokinase.

Exemple d'un traitement par la streptokinase chez un sujet présentant un infarctus du myocarde et une thrombose d'un vaisseau du membre inférieur : (*Tableau XXVII* et *fig. 3*).

Tableau XXVII

Prélèvement	Traitement	Plasminogène	Test à l'urokinase Temps de lyse : T =	M =
1	Avant Début du traitement/SK	80 %	8	10
2		< 10 %	4	> 24 h
3		< 10 %	6	> 24 h
4		< 10 %	8	> 24 h
5		< 10 %	8	> 24 h
6		< 10 %	6	> 24 h
7		< 10 %	10	> 24 h
8		< 10 %	7	> 24 h
	Arrêt du traitement/SK			
9		20 %	11	35
10		50 %	11	12
11		80 %		
12 (15 jours après le début du traitement)		100 %		

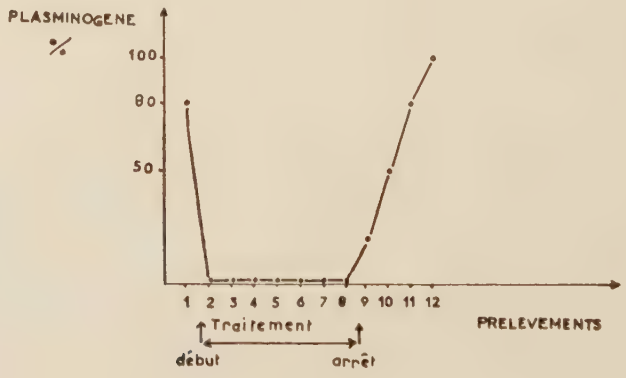


Figure 3

On constate que dès l'application du traitement le taux de plasminogène s'effondre jusqu'à devenir presque nul. Après arrêt du traitement, il remonte peu à peu jusqu'à une valeur normale.

Au contraire, au cours d'un traitement par le CY58 (Thromboclase), nous pouvons remarquer que le taux de plasminogène varie peu. Dans l'exemple ci-dessous (thrombose d'un vaisseau du membre inférieur), la consommation de plasminogène sanguin entre le deuxième et le cinquième jour de traitement est de l'ordre de 10 % (*Tableau XXVIII* et *fig. 4*).

Tableau XXVIII

Date	Traitement	Plasminogène	Proactivateur
30 octobre	Avant	90 %	120 %
1er novembre ..	(CY 58 et Héparine)		
2 novembre ...	»	80 %	120 %
4 novembre ...	»	80 %	90 %
6 novembre ...	»	80 %	100 %
9 novembre ...	Arrêt CY 58 Héparine	80 %	90 %
12 novembre ..	Héparine	90 %	130 %

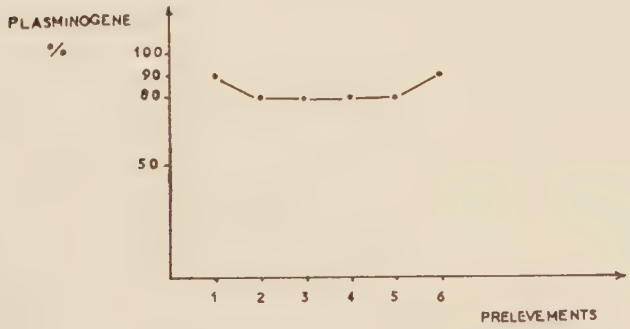


Figure 4

CHAPITRE V

ESSAI D'APPLICATION DE LA METHODE A L'EVALUATION DES INHIBITEURS PLASMATIQUES

Le dosage du plasminogène étant effectué sur la fraction euglobulinique privée d'inhibiteurs de fibrinolyse, il est intéressant de pouvoir évaluer ceux-ci en comparant la lyse produite par les euglobulines et par le plasma du même sujet.

Une première expérience de dosage du plasminogène effectuée en substituant uniquement le plasma aux euglobulines nous a montré que l'effet inhibiteur du plasma était tel qu'aucune lyse ne se produisait (*Tableau XXIX*).

Tableau XXIX

	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol
T. Euglobulines .		> 60	25	12	10	5	4	3	2,30
Plasma									> 120, lyse en 18 h

Nous avons mis ensuite les euglobulines et le plasma en présence de quantités croissantes de fibrinogène de manière à obtenir une lecture aisée de la lyse :

— Fibrinogène 5 p. 1.000 ..... quantités croissantes
— Tampon de MICHAELIS Q.S.P. .... 0,3 ml
— Plasma ou Euglobulines ..... 0,1 ml
— Streptokinase à 1.000 u/ml ..... 0,1 ml
— Thrombine à 20 u/ml ..... 0,1 ml

Temps de lyse obtenus (*Tableau XXX*) :

Tableau XXX

Quantité de fibrinogène		0	0,1 ml	0,2 ml	0,3 ml
T1	Euglobulines	3	< 20	< 20	< 20
	Plasma	5	> 60	> 60	> 60
T2	Euglobulines	2	6,30	12	< 20
	Plasma	3,30	> 60	> 60	> 60

La présence de fibrinogène rendant l'évaluation impossible, nous avons donc appliqué la technique de dosage du plasminogène à l'étude de l'activité inhibitrice du plasma, mais en supprimant le réactif fibrinogène. Les temps de lyse donnés dans ces conditions étant beaucoup plus courts, le terme de la réaction sera la plus grande dilution d'Iniprol pour laquelle le caillot ne sera pas *totalement* lysé en 30 minutes et non plus en 60 minutes (*Tableaux XXXI* et *XXXII*).

Tableau XXXI

	Sol-mère pure	1/2	1/6e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e	Sans Iniprol
Euglobulines ..				> 30	< 10	< 10	———	———	>
Plasma						> 30	< 10	———	>
Euglobulines ..	> 30	12	8	7	7	6	4	3	1,30
Plasma		> 30	15	13	8	7	5	4	2,30
Euglobulines ..		> 30	8	7	6	5	4	4	3
Plasma			> 30	9	8	7	6	4	2
Euglobulines ..		> 30	5,30	5	4	3	2	1	1
Plasma						> 30	5	3,30	2,30

Tableau XXXII

	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol
Cirrhose 1 (plasminogène < 10 %)				
Euglobulines		> 30	29	5
Plasma				> 30

Les résultats obtenus avec cette technique sont fonction du taux de plasminogène ; dans les cas de cirrhose, où ce taux est très bas, on est obligé d'ajouter une solution de plasminogène.

Exemple (*Tableau XXXIII*) :

Tableau XXXIII

	1/10e	1/15e	1/20e	1/40e	1/80e	Sans Iniprol
Cirrhose 2 (plasminogène < 10 %)						
Euglobulines						> 30
Euglobulines + 0,1 ml de plasminogène	> 30	27	14	6,30	6,15	6
Plasma						> 30
Plasma + 0,1 ml de plasminogène						> 30

— Recherche de la dose optimale de streptokinase à utiliser (*Tableau XXXIV*).

Tableau XXXIV

	1/2	1/3	1/4	1/5e	1/6e	1/8e	1/9e	1/15e
T SK = 500 u/ml Euglob.	> 30	5						
T SK = 500 u/ml Plasma				> 30	6			
SK = 250 u/ml Euglob.		> 30	6	< 6				
SK = 250 u/ml Plasma					> 30	< 6		
SK = 50 u/ml Euglob.				> 30	< 30			
SK = 50 u/ml Plasma					> 30	24	23	< 20
Cirrhose (plasminogène = 30 %)								
SK = 500 u/ml Euglob.							> 30	
SK = 500 u/ml Plasma								
SK = 250 u/ml Euglob.			> 30	3	2,30			
SK = 250 u/ml Plasma								> 30
SK = 100 u/ml Euglob.		> 30	12	< 12				
SK = 100 u/ml Plasma						> 30	30	< 8
SK = 50 u/ml Plasma			> 30	15	< 15			
SK = 50 u/ml Euglob.						> 30	< 30	

La dose de streptokinase à utiliser est donc la même que celle déterminée pour le dosage du plasminogène, soit :

— 500 unités/ml pour les témoins ;

— 250 ou 100 unités/ml pour les taux de plasminogène inférieurs à 50 %.

Il est difficile de chiffrer les résultats obtenus par cette technique mais ce procédé permet une évaluation approximative des inhibiteurs de la fibrinolyse.

ETUDE CLINIQUE

CHAPITRE I

CALCUL STATISTIQUE

Nous avons étudié le taux de plasminogène plasmatique de sujets présumés normaux (donneurs de la banque du sang de l'Hôpital Broussais) afin d'établir les valeurs physiologiques.

Nous nous sommes ensuite attachée à l'étude du plasminogène chez des sujets présentant une atteinte hépatique (cirrhose), le plasminogène étant synthétisé au niveau du foie.

1) Calcul statistique appliqué aux cas normaux

Le dosage du plasminogène a été effectué sur 111 témoins. Les résultats chiffrés en milliunités d'Activité Enzymatique (A.E.) ont permis une étude statistique (*Tableau XXXV*) :

Tableau XXXV

Dilutions d'Iniprol	1/6e	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e
lliunités d'AE/ml valeurs individuelles)	2.497,5	2.141,25	1.875	1.665	1.500	997,5	750
ombre de cas présen- ant la même valeur.	10	20	36	28	14	2	1

a) Moyen terme arithmétique (MT) :

MT = 1.853 milliunités d'AE
ce qui correspond à 494 unités ST d'Iniprol

Nous constatons que cette valeur correspond d'une part (approximativement) à la dilution au 1/8e de la solution mère d'Iniprol (500 unités ST d'Iniprol), d'autre part au plus grand nombre de cas présentant le même taux de plasminogène.

Si nous donnons la valeur 100 au témoin pour lequel le caillot n'est pas lysé en 60 minutes à cette dilution au 1/8e d'Iniprol, nous pouvons évaluer les taux de plasminogène des malades en pourcentage par rapport à ce témoin. Le calcul de la moyenne arithmétique en utilisant cette fois des pourcentages (MTx) nous donne (*Tableau XXXVI*) :

Tableau XXXVI

Dilutions d'Iniprol	1/6e	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/15e	1/20e
Pourcentage de plasminogène	135	115	*100*	90	80	50	40
Nombre de cas présentant la même valeur	10	20	*36*	28	14	2	1

MTx = 99,36 %

La courbe de Gauss représentant graphiquement nos résultats a été construite en inscrivant les fréquences en ordonnée et les déviations en abscisses.

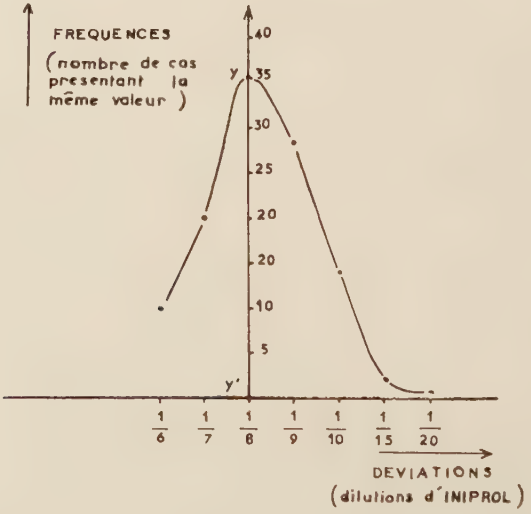


Figure 5

L'ordonnée maximale (y) correspond à une déviation égale à zéro. L'axe yy' perpendiculaire à l'abscisse coupe le polygone de fréquence en deux parties et détermine ainsi en abscisse des valeurs négatives à gauche du point y' (correspondant à la dilution au 1/8e d'Iniprol) et des valeurs positives à droite (*fig.* 5).

Nous poursuivrons les calculs statistiques en exprimant les taux de plasminogène en pourcentage.

b) Déviation standard (σ) (Ecart type) :

$\sigma = 17{,}5$
$2\ \sigma = 35$

Cela signifie que 68,3 p. 100 des cas que nous avons étudiés ont un taux de plasminogène de 100 % ± 17,5 et 95,4 p. 100 des cas ont un taux de 100 % ± 35.

c) Déviation standard du moyen terme (σ_M) (Erreur standard) :

$\sigma M = 1{,}66$

En connaissant le σ de la série d'observations, le σ_M indique avec quelle précision une observation représente le moyen terme réel et s'exprime par MT ± σ_M, soit 99,36 % ± 1,66.

2) Calcul statistique appliqué aux cirrhoses

Nous avons effectué le dosage du plasminogène dans 70 cas de cirrhose hépatique. Le *Tableau XXXVII* indique la répartition de nos résultats.

Tableau XXXVII

Dilutions d'Iniprol	1/7e	1/8e	1/9e	1/10e	1/13e	1/15e	1/20e	1/25e	1/30e	1/35e	1/40e	1/60e	1/80e	Sans Iniprol
Pourcentage de plasminogène	115	100	90	80	60	50	40	35	30	25	20	15	10	< 10
Nombre de cas présentant la même valeur	2	3	5	16	2	15	9	1	4	2	4	4	1	2

a) Moyen terme arithmétique MTy :

MTy = 53,71 %

b) Déviation standard (Ecart type) :

$\sigma = 28,11$
$2\ \sigma = 56,22.$

Donc 68,3 p. 100 des cas étudiés ont un taux de plasminogène de 53,71 % ± 28,11 et 95,4 p. 100 des cas ont un taux de 53,71 % ± 56,22.

c) Déviation standard du moyen terme (Erreur standard) :

$\sigma M = 3,36$
D'où MTy = 53,71 % ± 3,36.

3) Différence significative entre témoins et cirrhoses

Le calcul de la différence significative selon Student conduit à :

$$t = 14,04$$

La probabilité P est inférieure à 0,01, donc la différence « t » dans notre expérience est « statistiquement significative ». Les probabilités d'erreur sont donc très faibles puisqu'elles sont inférieures à 1 %.

CHAPITRE II

LE DOSAGE DU PLASMINOGENE DANS LES CIRRHOSES DU FOIE

I. — ETUDE EFFECTUÉE SUR 70 CAS DE CIRRHOSE HÉPATIQUE

Nous avons étudié les dossiers se rapportant aux 70 cas de cirrhose hépatique. Les diagnostics ayant souvent été établis par des laparoscopies avec ponction-biopsie, les tableaux cliniques ne nous ont pas montré de rapport étroit entre la présence ou la gravité de certains symptômes et les variations du taux de plasminogène.

La comparaison des taux de plasminogène avec les résultats fournis par d'autres examens de laboratoire, en particulier le bilan hépatique et les épreuves de coagulation a été plus satisfaisante.

Dans les *Tableaux synoptiques I* et *II* ci-après, nous n'avons pas représenté les résultats de tous les examens qui ont été effectués, soit parce que plusieurs d'entre eux n'ont été pratiqués que sur un petit nombre de sujets, soit par la trop grande diversité des chiffres qu'ils ont présentés (bilirubine, phosphatases, transaminases, fer sérique, urée, glycémie, ammoniémie, vitesse de sédimentation, temps de saignement, temps de coagulation, lyse des caillots sanguin et plasmatique, test à l'urokinase, proactivateur, consommation de prothrombine, temps de thrombine, facteurs du complexe prothrombinique).

Ces tableaux résument les résultats d'examens effectués sur 70 malades atteints de cirrhose hépatique d'origine éthylique. Ces cas sont classés d'après leur taux de plasminogène en commençant par les valeurs les plus basses afin de permettre une confrontation plus aisée avec les autres examens. Ceci nous permet de constater en première approximation une certaine corrélation entre les variations du taux de plasminogène et celles des autres examens de laboratoire.

LISTE DES ABREVIATIONS FIGURANT SUR LES TABLEAUX

A	: Albumine, en grammes par litre de sérum.	↗	: Hépatomégalie.
Alb	: Albumine (électrophorèse).	Imp.	: Impalpable.
A/G	: Rapport Albumine/Globulines.	KP	: Test de Kunkel-phénol, en unités Vernes.
Cplexe prothr.	: Complexe prothrombinique, en pourcentage par rapport à la normale.	KZ	: Test de Kunkel-zinc, en unités Vernes.
DCD	: Décédé.	Mening.	: Méningée.
Digest.	: Digestive.	Nl	: Normal.
Epist.	: Epistaxis.	PT	: Protides totaux, en grammes par litre de sérum.
G	: Globulines, en grammes par litre de sérum.	TEG	: Thromboélastogramme. am : amplitude maximale, en millimètres.
Gros	: Test de Gros, en millilitres.	Th	: Test au thymol, en unités Vernes.
Hémat.	: Hématémèse.		

N°	Nom	CLINIQUE				Plasminogène (en % par rapport à la normale)	Cholestérol (g/l)	PT (g/l)	A (g/l)	(
		Ascite	Coma hépatique	Foie	Hémorragies					
1	BEK.	+	+++DCD			<10				
2	PIC.	+				<10	1,25	82	26	
3	DIR.	+	+++DCD	Imp.		<15	2,40	79	26	
4	MAZ.	+		Imp.		15	1,30	61	26	
5	PIN.	+	+DCD 2 mois après	↗		15	1,15	50	23	
6	JOU.	+			+	15	2,30	68	20	
7	LAU.	-			Hémat.	15		69	31	
8	DES.	+		↗		20	1,45	74	31	
9	LEN.	+		↗	+	20				
10	HES.				+	20		88	36	
11	CAU.	+			+	20	1,60	79	33	
12	ROY.	-		↗	Hémat.	25	1,30	92	39	
13	TAS.	+	+++DCD			25	0,80	78	24	
14	POG.	+				30				
15	MAR.	+		↗	+	30	1,80	60	30,5	
16	MES.	+	+		+	(22-IX) 30 (23-XI) 30 (I-XII) 30	1,50 1,50	87 82	28 26	
17	BUG.	+		Imp.		(24-XI) 30 (2-XII) 30	1,15 1,60	65 72	27 30	
18	CHE.	+		↗		35	1,95	63	35	
19	ROU.	+	+DCD			(8-X) 40 (18-XI) 40 (20-XI) 45 (24-XI) 40	1 0,85	78 63	31 23	
20	GRA.	-	+DCD			40	1,80	80	27	
21	MAN.	+++		↗	Epist.	40	1,75	71	30	
22	PAN.		+DCD			40		59		
23	LER.	+		↗	Epist.	40	1,60	68	27	
24	JOU.	+		↗		40	1	69	21	
25	CHA.	+				40	1,95	80	40	
26	CAR.					40				
27	AER.	+	DCD			40	2,60	87	42,5	
28	LEV.	+++				50	1,15	72	31	
29	BAB.					50	1,60	62	30	
30	GUI.					50		79		
31	KRI.		+DCD			50		76		
32	CAH.	+				50	0,75	75	26	
33	CHA.	+				50	1,20	65	28	
34	DEL.	+		Imp.		50	1,20	70	31	
35	LEN.	+		↗		50	1,40	50	29	
36	BIG.	+				50	2,50	67	33	
37	GUI.		DCD		Hémat.	50				
38	BAR.				Digest.	50		88	37	

TESTS BIOLOGIQUES

Th (Unités Vernes)	KP (Unités Vernes)	KZ (Unités Vernes)	Gros (ml)	Electrophorèse	Fibrinogène (g/l)	Test de Von Kaulla (h = heure mn = minute)	Cplexe prothr. (%)	TEG am (mm)
				↗ Toutes fractions surtout ↗ γ	4,90	<18 h	40	56
46	17	88	0,70	↘ Alb ↗ β γ	1,90	15 mn	40	
16	27	61	1	↘ Alb ↗ β γ α	2,4		45	49
			0,80		1,5		29	42
3	23	27	0,85				43	53
			0,75		1,5	12 mn	15	35
					4,3	> 3 h	55	62
8	17	44	1,1		2,4	> 3 h	39	42
					3,2		49	
			1,2		3	> 3 h	40	50
			0,9		1,5	20 mn	15	35
		120	1,4		2,1	120 mn		40
27	6	125	0,70	↘ Alb ↗ β γ	2,8	>60 mn	29	41
					3	30 mn	47	66
4	21	23	1,20	↘ Alb ↗ β γ	2,5	90 mn	22	42
83	11	142	1	↗ β γ	1,9		40	45
53	12	148	0,80	↗ β γ	2,4		43	47
22	11	49	1,2		3,5		48	56
39	35	86	1					
2	24	9	1,95		3		43	60
96	20	122	0,65		1,7	>60 mn	39	43
73	32	54	0,90		1,9		41	
						6 h.30	46	45
						37 mn		
60	34	96	1,55	↘ Alb ↗ β γ	3,5	20 mn	48	54
43	18	60	1,30				50	
38	17	40	1,10		3,9	> 2 h	60	62
34	38	70	0,70		1,9		41	
22	8	77	0,75				23	
23	20	37	1,60		2,5		47	52
					3	20 mn	63	45
			1,25		3,9	> 3 h	54	57
8	16	45	1	↗ β γ	3	> 3 h	47	66
11	15	27	1,30		3,8		50	53
19	36	52	1,60					
23	13	48	1,10		5,9		65	63
17	11	64	0,70	↗ β γ	1,7	90 mn	38	37
9	9	42	1					
35	15	58	1,20		3,5	60 mn	47	55
9	12		1,90					
38	38	34	1,05		3		48	60
					3,7	90 mn	42	60
			1,3		2,5	> 3 h	50	53

N°	Nom	CLINIQUE				Plasminogène (en % par rapport à la normale)	Cholestérol (g/l)	PT (g/l)	A (g/l)
		Ascite	Coma hépatique	Foie	Hémorragies				
39	BRU.		DCD		Hémat.	50	1,30	69	33
40	POC.	-		↗	Hémat.	50		68	34
41	ROU.	+	+DCD			(12-X) 45 (14-XI) 50	2,05	62	34
42	SEY.	+++	DCD		+	(8-X) 50 (26-XI) 80	1,45	75	32
43	DON.					60		95	
44	GER.	+		↗		60	1,05	70	36
45	MOI.				Hémat.	80		82	34
46	MOR.				Hémat.	80		62	31
47	NIK.				Hémat.	80		64	39
48	CHE.	+			Hémat.	80	1,30	66	30
49	RAV.		DCD		Hémat.	80	2,10	72	43
50	EYR.					80	2,15	72	41
51	BER.	+	DCD	↗	Digest.	80	2,10	70	36
52	PUE.	+		↗		80	1,85	72	40
53	CUN.		DCD		Méning.	80	1,35	67	34
54	BRE.		+DCD			80		91	
55	FIC.		+			80	1,45	68	32
56	LEG.			↗		80		65	30
57	GOD.	+			Moelena	80	1,55	64	22
58	DUB.	+		↗		80	4,70 2,85	61	36
59	FRA.			Nl	+	(25.XI) 80 (2.XII) 80	1,45 1,45	61 77	30 38
60	COR.	+		↗		(27.X) 80 (26.XI) 80	1,75	69	31
61	LEN.				Hémat.	90		72	41
62	GUI.	-		↗	+	90	2,15	77	41
63	LAV.	±		↗		90		72	
64	GAL.	+	DCD 7 mois après			90		64	32
65	STO.	Laparoscopie = processus cirrhotique débutant				(20.XI) 90 (25.XI) 100	1,50 1,05	66	37
66	ROU.			↗		100			
67	CAP.	Processus cirrhotique peu avancé		↗		100	2	75	46
68	ROS.	+	DCD		Hémat.	100	1,75	83	39
69	BAS.	+			Digest.	>100	1,40	64	38
70	VAU.			↗		>100	2,40 2,15	66	34

ESTS BIOLOGIQUES

Th (Unités Vernes)	KP (Unités Vernes)	KZ (Unités Vernes)	Gros (ml)	Electrophorèse	Fibrinogène (g/l)	Test de Von Kaulla (h = heure · mn = minute)	Cplexe prothr. (%)	TEG am (mm)
		70	1,5		3,9	>3 h	51	56
		84	1,6		4,5	>3 h		
14	29	28	1,6		2,8	50 mn	36	43 lyse en 3h.
55	19	81	1,2		1,3		34	37
54	17	>100	1,4	↘Alb ↗γ	3,5		37	61
4	8	18	1,5	Nle	4,4		54	70
		78	1,7		5	3h.30		
	78		2		2,5	35 mn		
			2		2,3	45 mn	60	53
			1,2		3,3	>3 h	45	52
			1,9		3,7	>3 h	45	55
			1,85		4,3	>3 h	80	53
			1,2		5,2	>3 h	68	61
6	32	24	1,5		3,4	>2 h	43	
20	17	19	1,6					
3	74	83	1,8		4,8		50	61
28	18	30	1,35		4,8		50	
10	16	42	1,3		3,3	>3 h		
23	24	58	1,05		5,6	30 mn	50	63
17	72	14	1,35				49	
56 72	20 32	42 97	1,05 1,20	↗βγ	2,3 3,3		62 60	55 47
8	17	54	1,15		4,7		62	55
					2,6	35 mn		
			2		3	>3 h	60	43
8	17	18	1,5		3	>3 h	60	60
3	13	23	1,90	↗α_2 α β	6,9 5,6	>24 h >24 h	90 85	71
4	27	14	2,45	↗β				54
						35 mn	52	54
			1,85			>3 h	60	
100	71	67	1,25		5,2		62	61

II. — ETUDE DÉTAILLÉE DES ÉLÉMENTS BIOLOGIQUES

Nous avons établi des graphiques comportant en abscisse le pourcentage de plasminogène et en ordonnée les valeurs correspondant aux divers examens de laboratoire. Les figures obtenues ont fait apparaître les rapports entre le taux de plasminogène et les variations des autres tests de la manière suivante :

1) **Graphiques ne permettant de tirer aucune conclusion** à partir des éléments ci-dessous

Les points étant très dispersés, il ne peut être établi aucune relation entre les protides totaux, le test au thymol, le test de Kunkel-phénol et le taux de plasminogène.

a) Protides totaux (*fig. 6*) :

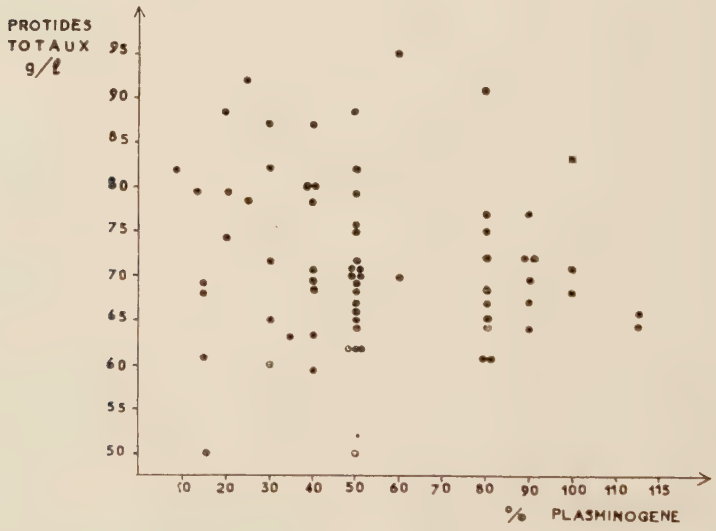


Figure 6

b) Test au thymol (*fig. 7*) :

c) Test de Kunkel-phénol (*fig. 8*) :

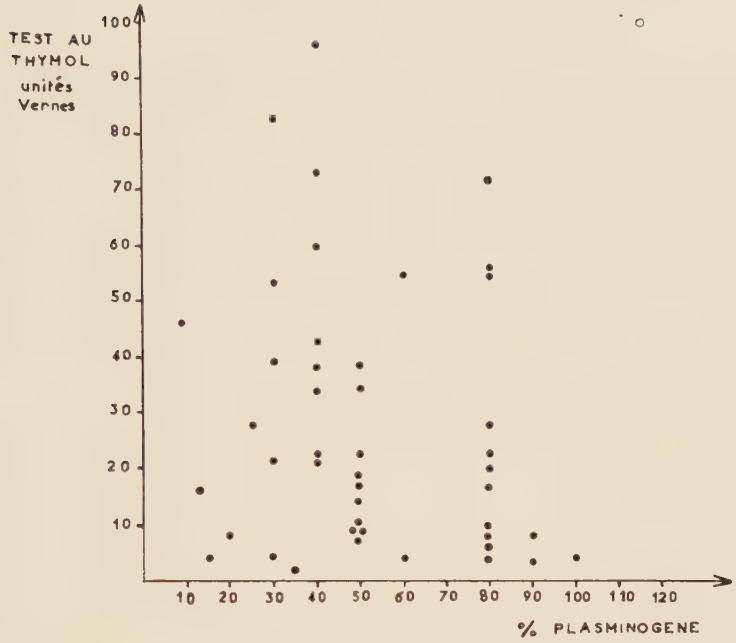


Figure 7

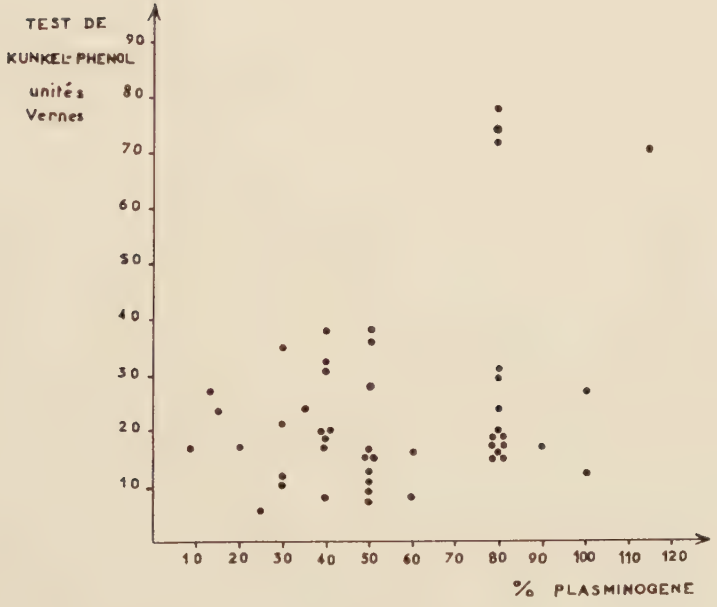


Figure 8

2) Graphiques apportant des indications imprécises

a) Cholestérol :

La correspondance entre le taux de plasminogène et le taux de cholestérol paraît très faible : cependant, pour un pourcentage de plasminogène inférieur ou égal à 50 %, 27 malades sur 31 ont un taux de cholestérol compris entre 0,75 et 1,95 g/l, alors que l'on peut constater une moyenne de chiffres plus élevés pour des taux de plasminogène égaux et supérieurs à 80 % (*fig. 9*).

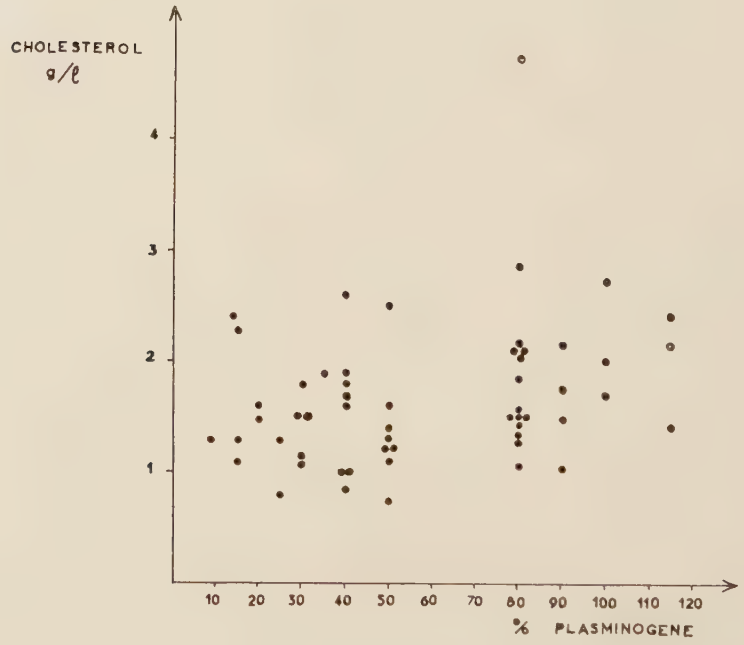


Figure 9

b) Test de Kunkel-zinc :

Il semble que les valeurs les plus anormales correspondent à des valeurs très basses de plasminogène, mais nous remarquons aussi soit un test de Kunkel-zinc normal pour un plasminogène très bas, soit un test de Kunkel-zinc anormalement élevé pour un plasminogène normal (*fig. 10*).

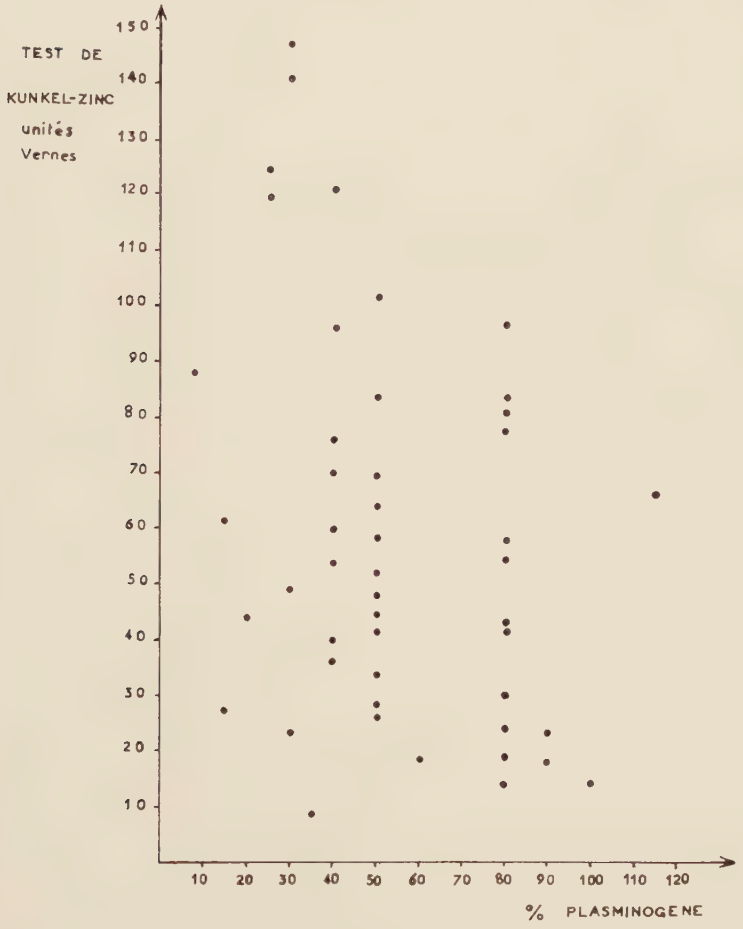


Figure 10

3) Graphiques permettant d'établir une corrélation entre le taux de plasminogène et les éléments suivants :

a) Test de Gros :

La positivité de ce test reflète un déséquilibre protéique (inversion du rapport Albumine/Globulines). Cette réaction est très perturbée au cours des cirrhoses et le graphique ci-dessous montre un parallélisme très net entre le test de Gros et le taux de plasminogène (*fig. 11*).

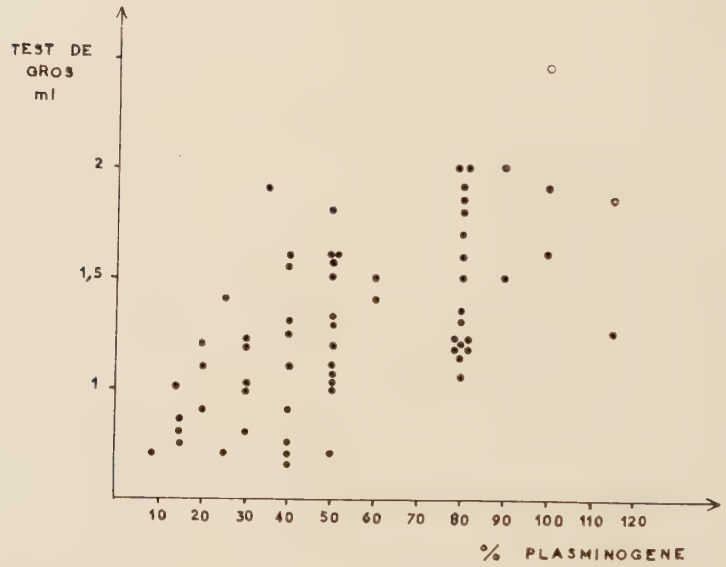


Figure 11

b) Albumine et Globulines :

On aperçoit très nettement sur les graphiques une augmentation de l'albumine parallèlement à l'augmentation du plasminogène et d'autre part une diminution des globulines correspondant à une augmentation du plasminogène (*fig. 12* et *13*).

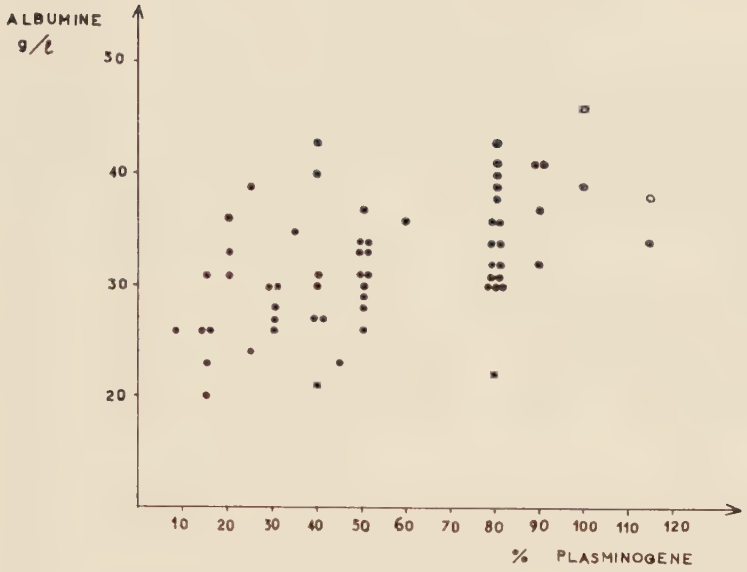


Figure 12

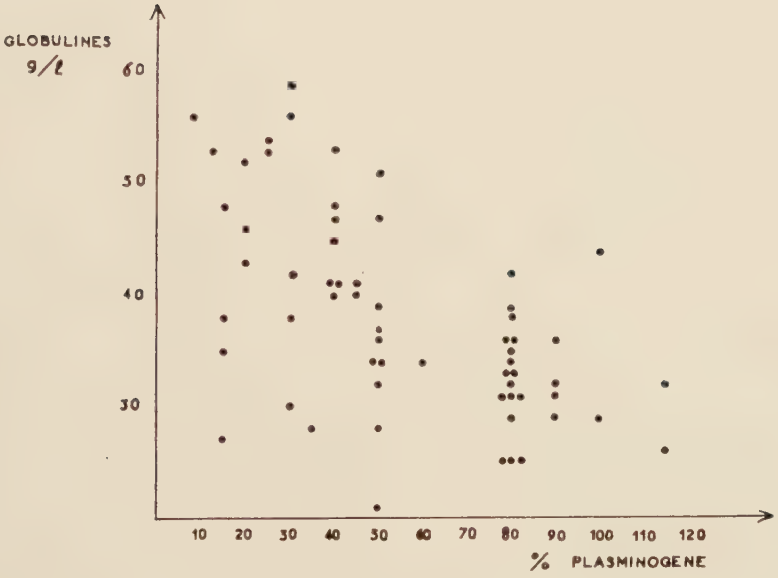


Figure 13

c) Rapport Albumine/Globulines = (A/G) :

Le graphique obtenu est aussi très évocateur de la corrélation entre ce rapport et le taux de plasminogène. Le rapport A/G est un bon critère d'atteinte hépatique lorsque cette fraction est inférieure à 1. Une activité fibrinolytique augmentée a été trouvée chez ces sujets (Casubolo [31], Coupier [40]). Sur 41 cas de plasminogène $\leqslant 50\ \%$, 7 seulement ont un rapport Albumine/Globulines $\geqslant 1$. Pour les taux supérieurs de plasminogène, 18 rapports Albumine/Globulines sont $\geqslant 1$, alors que 8 sont < 1, mais on est surpris de constater que dans ces derniers cas, en présence d'une fibrinolyse, le plasminogène ait une valeur normale (*fig. 14*).

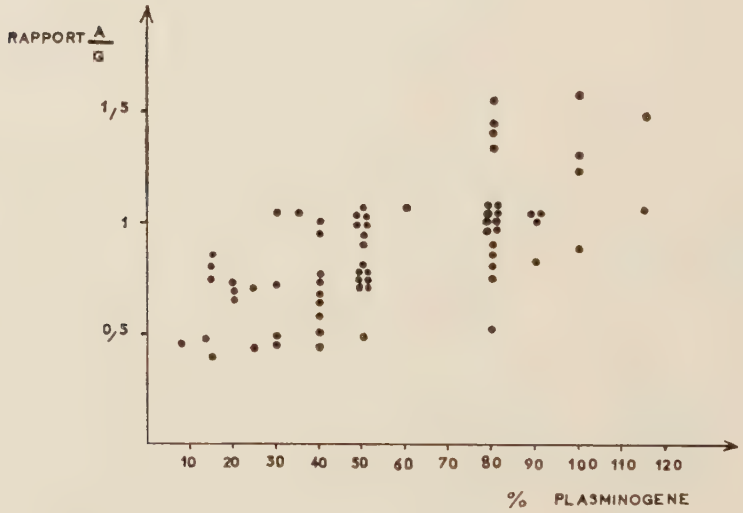


Figure 14

d) Fibrinogène :

Le graphique présente un parallélisme assez satisfaisant entre le fibrinogène et le plasminogène, mais beaucoup moins net qu'avec les tests précédents (*fig. 15*).

Pour Christensen [35], il y aurait une relation entre les taux de fibrinogène et de plasminogène.

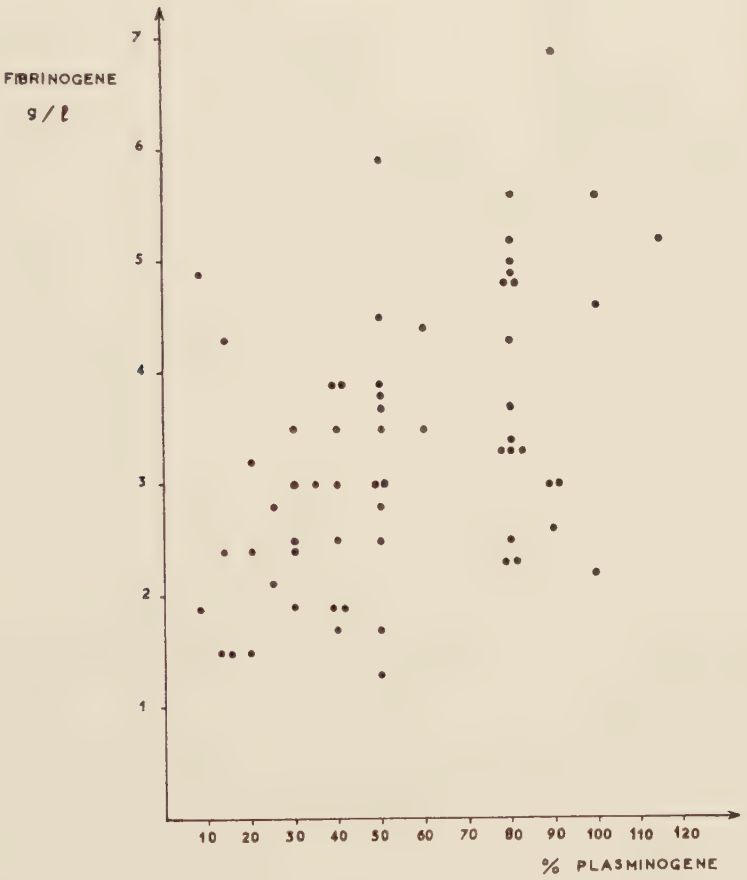


Figure 15

e) Complexe prothrombinique :

La corrélation est ici très nette. En effet, les valeurs les plus basses du complexe prothrombinique correspondent à des taux de plasminogène inférieurs à 50 % (*fig. 16*).

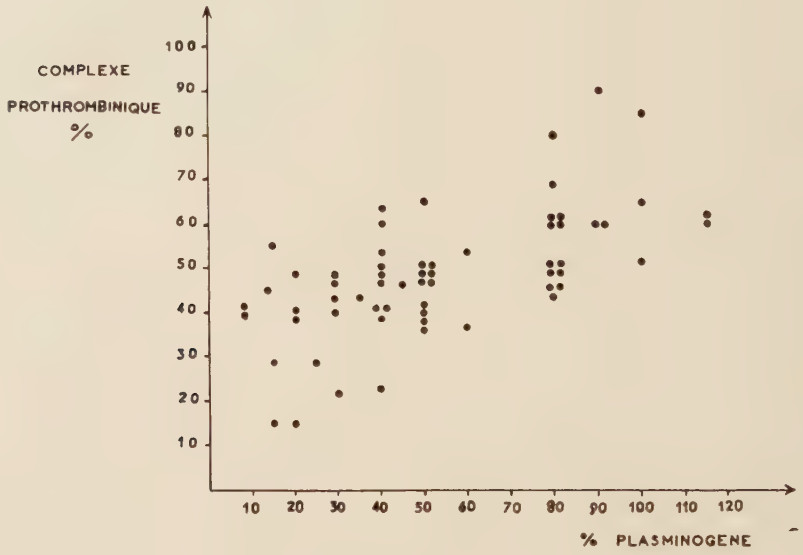


Figure 16

4) Autres épreuves

a) Fibrinolyse :

L'effondrement du taux de plasminogène ne semble pas toujours correspondre à une consommation par fibrinolyse ni à une déficience hépatique objectivée par les tests d'exploration.

La présence d'une activité fibrinolytique très anormale peut coïncider avec un taux de plasminogène très bas alors que nous trouvons quelquefois une fibrinolyse en présence de taux élevés de plasminogène. La signification de ce désaccord n'est pas résolue.

b) Proactivateur :

Nous avons dosé parallèlement le proactivateur et le plasminogène dans plus de 20 cas. La diminution du taux de proactivateur que nous avons observée correspondait à un taux de plasminogène abaissé ;

ceci est en accord avec les résultats obtenus par Blix [26] chez des patients atteints de désordres hépatiques (cirrhoses de Laënnec et hépatites chroniques).

c) Test a l'urokinase :

Ce test très simple permet de vérifier approximativement les résultats obtenus par le dosage du plasminogène.

Exemple :

— plasminogène	=	< 10 %	test à l'urokinase	= T = 5 mn M	= > 24 h
— »	=	50 »	»	T = 5 mn M	= 11 mn
— »	=	100 »	»	T = 5 mn M	= 5 mn

(T : témoin, M : malade, mn : minute, h : heure.)

REMARQUES

Dans l'ensemble des résultats, nous avons noté des bilans hépatiques très perturbés alors que le plasminogène était dans une zone normale. Par ailleurs, il est intéressant de constater que les taux de plasminogène les plus élevés (80 à 100 %) correspondent parfois à des cirrhoses de moyenne intensité ou à des processus cirrhotiques débutants prouvés par ponction-biopsie du foie (cas n^{os} 65 et 67).

Il ne nous a pas paru nécessaire de calculer les coefficients de corrélation, du fait que cette précision ne présentait pas d'intérêt du point de vue clinique.

III. — MODE D'EXPRESSION DES RÉSULTATS FOURNIS PAR LES EXAMENS BIOLOGIQUES

Pour préciser davantage les variations de ces valeurs en même temps que celles du taux de plasminogène, nous avons essayé de chiffrer de façon plus apparente les résultats des examens habituellement perturbés au cours des cirrhoses.

Si nous prenons les variations normales du plasminogène : 80 à 120 % et par exemple celles des globulines sériques : 25 à 30 g/l, nous pouvons calculer à partir de ces facteurs soit un quotient, soit un produit correspondant à la « normale » en combinant deux à deux les valeurs les plus extrêmes dans le sens le plus large, de façon à couvrir le plus grand nombre de cas possibles. On délimite ainsi une « zone de normalité » qui montre que la majorité des points relatifs aux cirrhoses sont en dehors.

Il est préférable d'effectuer les calculs en exprimant les résultats des examens en pourcentage par rapport à la normale (ainsi l'on multipliera ou l'on divisera des pourcentages avec des pourcentages et non des pourcentages d'une part (plasminogène) avec des grammes ou des millilitres d'autre part, par exemple).

Ainsi, pour les globulines exprimées en pourcentage par rapport à la normale, nous aurons :

— valeur normale minimale = 91 %
— valeur normale maximale = 109 %
— valeur normale moyenne = 100 %

1) Produit

Produit minimal :

$$\frac{\text{Plasminogène minimal} \times \text{Globulines minimales}}{100} = \frac{80 \times 91}{100} = 72{,}8$$

Produit maximal :

$$\frac{\text{Plasminogène maximal} \times \text{Globulines maximales}}{100} = \frac{120 \times 109}{100} = 130$$

Produit moyen :

$$\frac{\text{Plasminogène moyen} \times \text{Globulines moyennes}}{100} = \frac{100 \times 100}{100} = 100$$

2) Quotient

Quotient minimal :

$$\frac{\text{Plasminogène minimal}}{\text{Globulines maximales}} = \frac{80}{109} = 0{,}73$$

Quotient maximal :

$$\frac{\text{Plasminogène maximal}}{\text{Globulines minimales}} = \frac{120}{91} = 1{,}31$$

Quotient moyen :

$$\frac{\text{Plasminogène moyen}}{\text{Globulines moyennes}} = \frac{100}{100} = 1$$

Etant donné que dans les cirrhoses le chiffre des globulines est augmenté et celui du plasminogène plutôt diminué, les écarts par rapport à la zone normale doivent être calculés non pas en combinant

des facteurs qui s'annulent plus ou moins mais en combinant des facteurs qui se conjuguent : c'est donc le quotient qui sera intéressant du point de vue biologique :

$$\frac{\text{taux de plasminogène}}{\text{globulines par rapport à la normale}}$$

D'où : valeurs normales pour les globulines par rapport au plasminogène :

$$N = 0{,}73 \text{ à } 1{,}31$$

Nous avons appliqué ces calculs de produit ou de quotient aux tests suivants (*Tableau XXXVIII*) :

Tableau XXXVIII

Examens	Valeurs normales	Calcul effectué avec les taux des malades	Zone de normalité (N)
Albumine	45 ± 5 g/l	Produit	70,4 à 133,2
Globulines	27,5 ± 2,5 g/l	Quotient	0,73 à 1,31
Albumine/Globulines	1,65 ± 0,35	Produit	62,96 à 145,44
Test au thymol	5,5 ± 4,5 u. Vernes	Quotient	0,44 à 6,6
Test de Kunkel-phénol	22,5 ± 7,5 u. Vernes	Quotient	0,6 à 1,8
Test de Kunkel-zinc	22,5 ± 7,5 u. Vernes	Quotient	0,6 à 1,8
Test de Gros	2 ± 0,2 ml	Produit	72 à 132
Complexe prothrombinique	90 ± 10 %	Produit	71,04 à 133,32
Fibrinogène	3,5 ± 0,5 g/l	Produit	68,56 à 137,04

Les résultats de ces calculs correspondant à chaque malade, figurent sur les *Tableaux synoptiques III* et *IV*. Ils nous ont montré que peu de ces cas pouvaient être introduits dans la « zone de normalité ». Les résultats qui peuvent y être inclus correspondent en général à des taux de plasminogène supérieurs ou égaux à 80 %, exception faite pour le test de Kunkel-phénol où 27 sur 43 cas de cirrhose dont le plasminogène est supérieur ou égal à 30 % se trouvent dans la zone normale.

Le test au thymol présente aussi quelques cas qui peuvent être intégrés dans la zone de normalité (7 cas) pour des taux de plasminogène compris entre 30 et 60 %. On peut introduire dans cette zone quatre autres résultats isolés (test de Kunkel-zinc, 2 cas : n^{os} 18 et 44 ; fibrinogène, 2 cas : n^{os} 31 et 44) qui correspondent à des taux de plasminogène situés entre 35 et 60 %.

N°	Nom	Plasminogène %	Expression des résultats		
			A Produit N = 70,4 à 133,2	G Quotient N = 0,73 à 1,31	A/ Produ N = 6 à 145
1	BEK.	<10			
2	PIC.	<10	5,77	0,04	2,
3	DIR.	<15	8,65	0,07	4,
4	MAZ.	15	8,65	0,11	6,
5	PIN.	15	7,65	0,15	7,
6	JOU.	15	6,66	0,08	3,
7	LAU.	15	10,33	0,11	7,
8	DES.	20	13,78	0,12	8,
9	LEN.	20			
10	HES.	20	16	0,15	8,
11	CAU.	20	14,66	0,12	8,
12	ROY.	25	21,65	0,13	10,
13	TAS.	25	13,32	0,12	6,
14	POG.	30			
15	MAR.	30	20,01	0,28	18,
16	MES.	30 30 30	18,66 17,31	0,14 0,15	8, 8,
17	BUG.	30 30	18 19,99	0,21 0,19	12, 12,
18	CHE.	35	27,19	0,34	26,
19	ROU.	40 40 45 40	27,56 20,44	0,23 0,27	16 15,
20	GRA.	40	24	0,21	12,
21	MAN.	40	26,64	0,26	17,
22	PAN.	40			19,
23	LER.	40	24	0,26	15,
24	JOU.	40	18,64	0,22	10,
25	CHA.	40	35,52	0,27	24,
26	CAR.	40			
27	AER.	40	37,76	0,24	22,
28	LEV.	50	34,45	0,33	24,
29	BAB.	50	33,30	0,43	28,
30	GUI.	50			34,
31	KRI.	50			23,
32	CAH.	50	28,85	0,29	14,
33	CHA.	50	31,10	0,37	23,
34	DEL.	50	34,45	0,35	24,
35	LEN.	50	32,2	0,65	41,
36	BIG.	50	36,65	0,40	29,
37	GUI.	50			
38	BAR.	50	41,10	0,27	24,

biologiques par rapport au taux de plasminogène

Th otient = 0,44 6,6	KP Quotient N = 0,6 à 1,8	KZ Quotient N = 0,6 à 1,8	Gros Produit N = 72 à 132	Cplexe prothr. Produit N = 71,04 à 133,32	Fibrinogène Produit N = 68,56 à 137,04
				4,44	14
,017	0,2	0,22	3,5	4,44	5,4
,075	0,18	0,05	7,5	7,5	10,27
			6	4,83	6,4
,04	0,22	0,11	6,37	7,15	
			5,62	2,49	6,4
				9,16	18,4
,2	0,41	0,09	11	8,66	13,7
				10,88	18,56
			12	8,88	17,14
			9	3,32	4,56
		0,04	17,5		15
,074	1,46	0,04	8,75	8,05	20
				15,66	25,7
,6	0,44	0,26	18	7,32	21,4
,0028 ,045	0,95 0,87	0,04 0,04	15 12	13,32 14,31	16,26 20,55
,109 ,061	0,95 0,3	0,12 0,7	18 15	15,99	30
,4	0,51	0,77	34,12	16,62	29,99
,033 ,043	0,71 0,43	0,06 0,14	13 18	17,32 18,2 22,99	19,4 21,7
,053	0,4	0,08	31	21,32	40
,074	0,77	0,13	26	22,2	
,084	0,82	0,2	22	27,76	44,56
,094	0,36	0,11	14	18,2	21,7
,145	1,75	0,1	15	10,2	
,139	0,7	0,21	32	20,88	28,56
				28	35
			25	24,	44,56
,5	1,09	0,22	25	26,1	42,8
,36	1,16	0,37	32,5	27,75	54,2
,21	0,48	0,19	40		
,17	1,34	0,2	27,5	36,1	84,2
,23	1,59	0,15	17,5	21,1	24,2
,44	1,94	0,23	25		
,011	1,16	0,17	30	26,1	50
,44	1,46		47,5		
,105	0,46	0,29	26,25	26,65	42,8
				23,3	52,8
			32,5	27,75	35,7

N°	Nom	Plasminogène %	Expression des résultats		
			A Produit N = 70,4 à 133,2	G Quotient N = 0,73 à 1,31	A/G Produ N = 6 à 145
39	BRU.	50	36,65	0,38	27,
40	POC.	50	37,75	0,40	30,
41	ROU.	45 50	37,75	0,49	36,
42	SEY.	50 80	56,88	0,66	39,
43	DON.	60			
44	GER.	60	48	0,49	38,
45	MOI.	80	60,4	0,88	63,
46	MOR.	80	55,12	0,71	48,
47	NIK.	80	69,28	0,88	74,
48	CHE.	80	53,28	0,61	41,
49	RAV.	80	76,4	0,76	67,
50	EYR.	80	72,88	0,71	64
51	BER.	80	64	0,65	63,
52	PUE.	80	71,04	0,68	59,
53	CUN.	80	60,4	0,66	50,
54	BRE.	80			
55	FIC.	80	56,88	0,61	43,
56	LEG.	80	53,28	0,63	38,
57	GOD.	80	39,04	0,52	19,
58	DUB.	80	64	0,88	69,
59	FRA.	80 80	53,28 67,52	0,71 0,56	47, 47,
60	COR.	80	55,12	0,65	39,
61	LEN.	90	81,99	0,80	65,
62	GUI.	90	81,99	0,69	59,
63	LAV.	90			
64	GAL.	90	63,99	0,77	54,
65	STO.	90 100	82,2	0,95	78,
66	ROU.	100			
67	CAP.	100	102,2	0,95	95,
68	ROS.	100	86,6	0,62	53,
69	BAS.	>100	97,06	1,22	103,
70	VAU.	>100	86,82	0,99	90,

Tableau synoptique IV

biologiques par rapport au taux de plasminogène

Th tient 0,44 ,6	KP Quotient N = 0,6 à 1,8	KZ Quotient N = 0,6 à 1,8	Gros Produit N = 72 à 132	Cplexe prothr. Produit N = 71,04 à 133,32	Fibrinogène Produit N = 68,56 à 137,04
		0,14	37,5	28,3	55,7
		0,12	40		64,2
,28	0,6	0,35	40	20	40
,116	1,47	0,19	48	18,85	18,55
,088	1,23	0,12	42	24,66	60
,2	2,63	0,66	45	36	75,42
		0,2	68		114,24
	0,35		80		57,12
			80	51,52	52,6
			48	40	75,36
			76	40	84,64
			74	71,04	108,24
			48	60,4	118,8
,06	0,86	0,66	60	38,16	78,8
,32	1,64	0,82	64		
,13	0,37	0,19	72	44,4	109,68
,23	1,55	0,53	54	44,4	109,68
,64	1,75	0,38	52		75,36
,28	1,16	0,27	42	44,4	128
,37	0,38	1,14	54	43,5	
,11 ,09	1,4 0,86	0,38 0,01	42 48	55 51,5	52,56 75,36
,80	1,64	0,29	46	55	107,84
					66,78
			90	57,96	77,13
,9	1,93	1	67,5	57,96	77,13
,6	2,69	0,85	85	100 94,4	177,39 160
	1,29	1,42	122,5		
				57,7	
			106,37	74,06	
,092	0,56	0,34	71,87	79,12	170,77

A 5 cas dont les taux de plasminogène sont compris entre 35 et 50 % correspondent à la fois 2 de ces résultats : n° 18 (Th, KZ), n^{os} 28, 29, 35 (Th, KP), n° 31 (KP, fibrinogène). L'examen général des tests biologiques relatifs à ces malades ne permet pas de tirer de conclusion.

Seul le cas n° 44 (plasminogène = 60 %) groupe 3 résultats intégrables dans la zone de normalité (Th, KZ, fibrinogène), mais ici nous pouvons constater que le bilan hépatique de ce malade n'est pas très perturbé.

IV. — LE PLASMINOGÈNE AU COURS DES ANASTOMOSES PORTO-CAVE

Les dosages effectués sur des prélèvements pratiqués par L. Casubolo [31] en cours d'intervention (13 cas) indiquent un taux stable du plasminogène sauf en présence de fibrinolyse. Dans ce cas, le taux de plasminogène est très abaissé, puis remonte à la suite de traitement par les inhibiteurs spécifiques pendant l'intervention (*Tableau XXXIX*).

Exemple de Madame Mor... :

— Protides totaux ..... 62 g/l
— Albumine ..... 31 g/l
— Globulines ..... 31 g/l
— A/G 1
— Test de Kunkel-phénol ..... 78 u. Vernes
— Test de Gros ..... 2 ml

Tableau XXXIX

Heure	Prélèvement	Traitement	Plasminogène	Test de Von Kaulla	LCS	LCP	Fibrinogène g/l
8 h 45	+	0	80 %	35 mn	48 h	8 h	2,5
9 h 40	+		20 %	18 mn	2 h 40	3 h 30	2,3
10 h 50	+		40 %	15 mn	1 h 10	1 h	2
11 h		Iniprol 4 millions d'unités					
11 h 30	+		80 %	20 mn	24 h	3 h	3
11 h 40	+		100 %	25 mn	> 24 h	4 h	
		Arrêt de perfusion					
14 h	+		80 %	20 mn	> 24 h	⩽ 3 h 45	
		Fibrinogène					
18 h	+		80 %	80 mn	> 24 h	10 h	3

LCS = lyse du caillot sanguin — mn = minute
LCP = lyse du caillot plasmatique — h = heure

CONCLUSIONS GENERALES

Après avoir rappelé dans leurs grandes lignes la physiopathologie de la fibrinolyse et son exploration, nous nous sommes attachée à l'étude du dosage du plasminogène.

Cette étude a consisté :

1) A décrire les principales méthodes d'évaluation du taux plasmatique ou sérique du plasminogène.

2) A proposer une nouvelle méthode qui consiste en un dosage indirect de ce facteur : étude de la fibrinolyse après avoir neutralisé la plasmine (plasminogène activé par la streptokinase) par un inhibiteur stoechiométrique rigoureusement titré (inhibiteur de KUNITZ).

A la faveur des différentes étapes parcourues pour parvenir à la mise au point de cette nouvelle technique, il nous a été possible de préciser les éléments à retenir, qui constituent les conditions optimales du mode opératoire, les plus importants étant :

- la détermination des concentrations et des volumes différents sous lesquels chaque réactif doit être employé, en particulier :
  - les dilutions d'inhibiteur de KUNITZ ;
  - les concentrations optimales de streptokinase ou d'urokinase ;
- l'utilisation par préférence du gaz carbonique pour la précipitation des euglobulines.

Les résultats obtenus par cette technique sont fidèles et reproductibles. Ils peuvent être exprimés soit en pourcentage par rapport à la normale, soit en milliunités d'Activité Enzymatique de plasmine.

Il faut noter que nos recherches dans l'application de cette méthode à l'évaluation des inhibiteurs plasmatiques de la fibrinolyse n'ont fourni que des données approximatives.

Pour illustrer cette méthode, nous l'avons appliquée à 70 cas de cirrhose hépatique d'origine éthylique.

Le taux de plasminogène a été comparé aux résultats des autres examens de laboratoire effectués sur chaque malade, et transcrit sous forme de graphiques.

En tenant compte des résultats obtenus sur ces 70 cas, comparés à des résultats relatifs à des sujets normaux, il nous a été possible de montrer que, dans la majorité des cas de cirrhose, le taux de plasminogène est nettement abaissé, et qu'il y a une bonne corrélation entre la diminution du taux de plasminogène et les anomalies constatées dans les tests d'exploration tels que : le test de Gros, le dosage de l'albumine, des globulines, le rapport A/G, le dosage du fibrinogène, du complexe prothrombinique, du proactivateur, le test à l'urokinase.

Il nous est ainsi apparu, à la lumière de ces recherches, que cette méthode de dosage du plasminogène, facilement réalisable par un laboratoire disposant d'un équipement courant, est susceptible d'apporter au clinicien une donnée supplémentaire dans l'étude des cirrhoses.

Vu, le Doyen :
VALETTE

Vu, le Président de Thèse :
PIETTE

Vu et Permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

1. Albrechtsen O.K. — The fibrinolytic activity of the human endometrium. *Acta Endocr.*, 1956, 23, 207.

2. Albrechtsen O.K., Storm O., Claasen M. — Fibrinolytic activity in some human body fluids. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1958, 10, 310.

3. Alkjaersig N., Fletcher A.P., Sherry S. — The activation of human plasminogen. Spontaneous activation in glycerol. *J. Biol. Chem.*, 1958, 233, 81.

4. Alkjaersig N., Fletcher A.P., Sherry S. — The activation of human plasminogen. A kinetic study of activation with trypsin, Urokinase and Streptokinase. *J. Biol. Chem.*, 1958, 233, 86.

5. Alkjaersig N., Fletcher A.P., Sherry S. — Epsilon aminocaproic acid : an inhibitor of plasminogen activation. *J. Biol. Chem.*, 1959, 234, 832.

6. Alkjaersig N., Fletcher A.P., Sherry S. — Pathogenesis of the coagulation defect developing during pathological plasma proteolytic (« fibrinolytic ») states. The significance, mechanism and consequences of defective fibrin polymerization. *J. Clin. Invest.*, 1962, 41, 917.

7. Ambrus J.L., Ambrus C.M., Back N., Sokal J.E., Collins G.L. — Clinical and experimental studies on fibrinolytic enzymes. *Ann. New-York Acad. Sci.*, 1957, 68, 97.

8. Astrup T., Permin P.M. — Fibrinolysis in the animal organism. *Nature*, 1947, 159, 681.

9. Astrup T., Mullertz S. — The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch. Biochem.*, 1952, 40, 346.

10. Astrup T. — The haemostatic balance. *Thromb. Diath. Haem.*, 1953, 2, 347.

11. Astrup T., Sterndorff I. — The plasminogen activator in animal tissue. *Acta Physiol. Scand.*, 1956, 36, 250.

12. Astrup T. — The biological significance of fibrinolysis. *Lancet*, 1956, 2, 565.

13. Astrup T. — Fibrinolysis in organism. *Blood,* 1956, 11, 781.

14. Astrup T., Rasmussen J., Amery A., Poulsen H.E. — Fibrinolytic activity of cirrhotic liver. *Nature,* 1960, 195, 619.

15. Astrup T. — Inhibitors of urokinase. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.,* 1963, 16, 6.

16. Baluda V.P. — Laboratory diagnosis of thromboembolic complications. *Federation Proceedings,* 1963, 22, 483.

17. Bang N.U., Fletcher A.P., Alkjaersig N., Sherry S. — Pathogenesis of the coagulation defect developing during pathological plasma proteolytic (« fibrinolytic ») states. Demonstration of abnormal clot structure by electron microscopy. *J. Clin. Invest.,* 1962, 41, 935.

18. Barnhart M.I., Riddle J.M. — Cellular localization of profibrinolysin (plasminogen). *Blood,* 1963, 21, 306.

19. Bellet S., Sandberg H., Tsitouris G., Muller O., Schraeder J. — Alterations in fibrinolytic parameters in the human during recovery from diabetic acidosis. *Metabolism,* 1961, 10, 429.

20. Biggs R., MacFarlane R.G., Pilling J. — Observations on fibrinolysis, experimental activity produced by exercise or adrenaline. *Lancet,* 1947, 1, 402.

21. Billimoria J.D., Drysdale J., James D.C.O., MacLagan N.F. — Determination of fibrinolytic activity of whole blood with special reference to the effects of exercise and fat feeding. *Lancet,* 1959, 2, 471.

22. Blatt W.F., Gray J.L., Jensen H. — Mecanism of human plasminogen activation by streptokinase and human plasmin. *Thromb. Diath. Haem.,* 1964, 11, 85.

23. Blix S. — Studies on the fibrinolytic system in the euglobulin fraction of human plasma. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.,* 1961, 13 : suppl., 58.

24. Blix S. — Antibodies after streptokinase treatment, and their importance for repeated fibrinolytic therapy. *Acta Med. Scand.,* 1961, 170, 201.

25. Blix S. — The euglobulin method for estimation fibrinolytic activity in streptokinase-activated plasma. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.,* 1962, 14, 528.

26. Blix S. — The proactivator of the fibrinolytic system in human plasma. The quantitative determination and its clinical application. *Acta Med. Scand.,* 1962, 171, 83.

27. Blix S. — The proactivator (plasminogen ?) determination in plasma during fibrinolytic therapy. *Acta Med. Scand.,* 1964, 176, 649.

28. Buckell M., Elliot F.A. — Diurnal fluctuation of plasma fibrinolytic activity in normal males. *Lancet,* 1959, 1, 660.

29. Buluk K.J., Killar M.T., Olbromski J. — The activator of plasminogen and streptoplasmin. *Postepy Hig. i. Med. Dóswiadczalnej.*, 1960, 14, 559. (*Chemical Abstracts*, 1961, 55, 12.491 h.)

30. Caen J., Larrieu M.J., Samama M., Manet L. — Méthodes d'exploration de l'hémostase. Polycopie Gilanne. Paris. 1965. 1 volume.

31. Casubolo L. — La fibrinolyse au cours des cirrhoses. Aspects médicaux et chirurgicaux. *Thèse de doctorat en médecine*, Paris, 1965.

32. Christensen L.R., MacLeod M.C. — A proteolytic enzyme of serum : characterization, activation and reaction with inhibitors. *J. Gen. Physiol.*, 1945, 28, 559.

33. Christensen L.R. — The activation of plasminogen by chloroform. *J. Gen. Physiol.*, 1946, 30, 149.

34. Christensen L.R. — Methods for measuring the activity of components of the streptococcal fibrinolytic system and streptococcal desoxyribonuclease. *J. Clin. Invest.*, 1949, 28, 163.

35. Christensen L.R. — The streptokinase-plasminogen system. In : Streptococcal infections. MacCarty, New-York, Columbia, 1954.

36. Cliffton E.E., Burchell A.R. — Inhibition of fibrinolysis by hyperlipemia. *Thromb. Diath. Haem.*, 1961, 5, 463.

37. Cohen S.I., Warren R. — Fibrinolysis. *The New England Journal of Medecine*, 1961, 264, 79.

38. Cohn E.J., Strong L.E., Hughes W.L., Mulford D.J., Aschworth J.N., Melin M., Taylor H.L. — Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV : A system for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids. *J. Am. Chem. Soc.*, 1946, 68, 459.

39. Correl J.T., Sjoerdsma A. — Inhibition of a human fibrinolytic system by normal and pathologic sera. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1962, 111, 274.

40. Coupier J. — Fibrinolyse et cirrhose hépatique. *Thèse de doctorat en médecine*. Paris, 1963.

41. Davidson F.M. — The activation of plasminogen by staphylokinase. Comparison with streptokinase. *Biochem. J.*, 1960, 76, 56.

42. Davies M.C., Englert M.E. — Physical properties of highly purified human plasminogen. *J. Biol. Chem.*, 1960, 235, 1011.

43. Deutsh E., Elsner P. — Pyrogens as thrombolytic agents. Clinical and experimental studies. *The Am. J. Cardiol.*, 1960, 6, 420.

44. Douglas A.S., MacNicol G.P. — Thrombolytic therapy. *Brit. Med. Bull.*, 1964, 20, 228.

45. Duckert F. — Diagnostic différentiel de la coagulation intravasculaire et de la fibrinolyse. *Schweiz. Med. Wschr.,* 1964, Nr 39, Bd 94, 1375.

46. Dudok de Wit C. — The role of plasminogen in fibrinolysis. *Vox Sang.,* 1962, 7, 526.

47. Eisen V. — Fibrinolysis and formation of biologically active polypeptides. *Brit. Med. Bull.,* 1964, 20, 205.

48. Fearnley G.R., Revill R., Twee J.M. — Observations on the inactivation of fibrinolytic activity in shed blood. *Clin. Sci.,* 1952, 11, 309.

49. Fearnley G.R., Balmforth G., Fearnley E. — Evidence of a diurnal fibrinolytic rhythm ; with a simple method of measuring natural fibrinolysis. *Clin. Sci.,* 1957, 16, 645.

50. Fearnley G.R. — Physiology and pharmacology of fibrinolysis. *Brit. Med. Bull.,* 1964, 20, 185.

51. Fearnley G.R. — Fibrinolysis. Edward Arnold Publisher, London, 1965.

52. Fletcher A.P., Alkjaersig N., Sherry S. — Fibrinolytic mechanisms and development of thrombolytic therapy. *Amer. J. Med.,* 1962, 33, 738.

53. Flute P.T. — The assessment of fibrinolytic activity in the blood. *Brit. Med. Bull.,* 1964, 20, 195.

54. Gaburro D., Panizza G.F., Bonifaci E. — Les inhibiteurs de la fibrinolyse chez le nouveau-né. *Ann. Ped.,* 1964, 11, 53.

55. Geeter L. de, Salmon J., Dumont A. — La fibrinolyse en chirurgie. Extrait des *Acta Chirurgica Belgica,* supplément 1, 1963.

56. Gollub S., Ulin A., Paxson N.D., Winchell H.S., O'Riordan J., Back N., Ambrus J.L. — Obstetrical hemorrhage in criminal abortion and abruptio placentae. *J. Lab. Clin. Med.,* 1959, 53, 765.

57. Greig H.B.W. — Inhibition of fibrinolysis by alimentary lipaemia. *Lancet,* 1956, 2, 16.

58. Greig H.B.W., Cornelius E.M. — Isolation of a proactivator from human plasma Fraction III. *Biochim. Biophys. Acta,* 1962, 57, 617.

59. Gross R., Holemans R. — Differenzierieng des Einflusses der Blutplattchen auf die Fibrinolyse. *Klin. Wschr.,* 1960, 38, 399.

60. Gross R., Lechler E. — Weitere Untersuchungen über den Plättchen. Proaktivator der fibrinolyse. *Klin. Wschr.,* 1962, 40, 818.

61. Guest M.M. — Profibrinolysin, antifibrinolysin, fibrinogen and urine fibrinolytic factors in the human subject. *J. Clin. Invest.,* 1954, 33, 1553.

62. Guest M.M., Celander D.R. — Fibrinolytic activity in exercise. *Physiologist,* 1960, 3, 69

63. Hagan J.J., Ablondi F.B., Renzo E.C. de — Purification and biochemical properties of human plasminogen. *J. Biol. Chem.,* 1960, 235, 1005.

64. Hajjar G.C., Moser K.M. — Variations in plasma fibrinogen and euglobulin activity in normal, diabetic, and cirrhotic subjects. *Clin. Res.,* 1961, 9, 160.

65. Hardaway R.M., Eldvitz M.J., Brewster W.R., Houchin D.N. — Clotting time of heparinised blood. Influence of acidose. *Arch. Surg.,* U.S.A., 1964, 89, 701.

66. Howell M. — Effects of plasma lipids on fibrinolysis. *Brit. Med. Bull.,* 1964, 20, 200.

67. Iatridis S.G., Ferguson J.M. — Active Hageman factor : a plasma lysokinase of the human fibrinolytic system. *J. Clin. Invest.,* 1962, 41, 1277.

68. Jackson H.D., Mertz E.T. — Activation of bovin plasminogen by trypsin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,* 1954, 86, 827.

69. Johnson A.J., Tilett W.S. — The lysis in rabbits of intravascular blood clots by the streptococcal fibrinolytic system (streptokinase). *J. Exp. Med.,* 1952, 95, 449.

70. Johnson A.J., Semar M., Skoza L. — Isolation and preliminary caracterisation of a plasminogen activator from human erythrocytes. *Xth Congress of International Society of Hematology,* Stockholm, 1964. Abstracts of publications. G : 76.

71. Johnson S.A., Schneider C.L. — The existence of antifibrinolysin activity in platelets. *Science,* 1953, 117, 229.

72. Kaulla K.N. von, Schultz R.L. — Methods for the evaluation of human fibrinolysis. Studies with two combined techniques. *Am. J. Clin. Path.,* 1958, 29, 104.

73. Kaulla K.N. von, MacDonald T.S. — The effect of heparin on components of the human fibrinolytic system. *Blood,* 1958, 13, 811.

74. Kaulla K.N. von, Smith R.L. — Urea derivatives as fibrinolysis promoting agents. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,* 1961, 106, 530.

75. Kaulla K.N. von, Smith R.L. — Plasma clot dissolution by urea derivatives. *Nature,* 1961, 190, 449.

76. Kaulla K.N. von. — Chemical structure and fibrinolysis induction. *Thromb. Diath. Haem.,* 1962, 7, 391.

77. Kaulla K.N. von. — The chemistry of thrombolysis : human fibrinolytic enzymes. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, U.S.A., 1963, 1 vol.

78. Kekwick R.A., MacKay M.E., Nance M.H., Record B.R. — The purification of human fibrinogen. *Biochem. J.,* 1955, 60, 671.

79. Kline D.L. — The purification and crystallization of plasminogen (profibrinolysin). *J. Biol. Chem.*, 1953, 204, 949.

80. Kline D.L., Fishman J.B. — Proactivator function of human plasmin as shown by lysine esterase assay. *J. Biol. Chem.*, 1961, 236, 2807.

81. Kline D.L., Fishman J.B. — Improved procedure for the isolation of human plasminogen. *J. Biol. Chem.*, 1961, 236, 3233.

82. Koller F. — The development of our knowledge of fibrinolysis. *Amer. J. Card.*, 1960, 6, 367.

83. Kopéc M., Kowalski E., Stachwiska J. — Studies on paracoagulation. Role of antithrombin VI. *Thromb. Diath. Haem.*, 1960, 5, 285.

84. Kowalski E., Latallo Z., Niewiarowski S. — Influence des ions métalliques sur l'activité de la plasmine. *Sang*, 1956, 27, 466.

85. Kowalski E., Kopéc M., Niewiarowski S. — An evaluation of the euglobulin method for the determination of fibrinolysis. *J. Clin. Path.*, 1959, 12, 215.

86. Kuenzer W., Stroeder J. — Profibrinolysin und Antifibrinolysin bei Unreifgeborenen. *Ann. Paediat.*, 1961, 197, 9.

87. Kunitz M. — Cristalline soybean trypsin inhibitor; general properties. *J. Gen. Physiol.*, 1947, 30, 291.

88. Lack C.H. — Proteolytic activity and connective tissue. *Brit. Med. Bull.*, 1964, 20, 217.

89. Lewis J.H., Ferguson J.H. — A proteolytic enzyme system of the blood. Activation of dog serum profibrinolysin by staphylokinase. *Amer. J. Physiol.*, 1951, 166, 594.

90. Lewis J.H., Walters D., Didisheim P., Merchant W. — Application of continuous flow electrophoresis to the study of the blood coagulation proteins and the fibrinolytic enzyme system. I. Normal human materials. *J. Clin. Invest.*, 1958, 37, 1323.

91. Loomis E.C., George C., Ryder A. — Fibrinolysin: nomenclature, unit, assay, preparation and properties. *Arch. Biochem.*, 1947, 12, 1.

92. MacFarlane R.G., Pilling J. — Fibrinolytic activity of normal urine. *Nature*, 1947, 159, 779.

93. MacFarlane R.G., Biggs R. — Fibrinolysis. Its mechanism and significance. *Blood*, 1948, 3, 1167.

94. MacFarlane R.G. — The development of ideas on fibrinolysis. *Brit. Med. Bull.*, 1964, 20, 173.

95. Mackay M. — Fractionation and standardization of plasma fibrinolytic components. *Brit. Med. Bull.*, 1964, 20, 189.

96. Mac Nicol G.P., Douglas A.S. — Epsilon aminocaproic acid and other inhibitors of fibrinolysis. *Brit. Med. Bull.*, 1964, 20, 233.

97. Marchal G., Samama M. — Les fibrinolyses aiguës en chirurgie majeure et leur traitement. *VII^e Cong. Int. Thér.*, Genève, 1961. Ed. Médecine et Hygiène.

98. Marchal G., Bilski-Pasquier G., Samama M. — Fibrinolyse et acide epsilon aminocaproïque. *Hémostase*, 1964, 4, 95.

99. Milstone H. — A factor in normal human blood which participates in streptococcal fibrinolysis. *J. Immunol.*, 1941, 42, 109.

100. Mirsky I.A., Perisutti G., Davis N.C. — Destruction of glucagon, adrenocorticotropin and somatropin by human blood plasma. *J. Clin. Invest.*, 1959, 38, 14.

101. Mole R.H. — Fibrinolysin and the fluidity of the blood post mortem. *J. Path. Bact.*, 1948, 60, 413.

102. Moriau M., Vries S.I. de, Dik H.J. — Les inhibiteurs de la fibrinolyse et le dosage de l'activité antiplasminique physiologique et pathologique. *Thromb. Diath. Haem.*, 1964, 10, 354.

103. Mourad M. — Etude critique des techniques de détermination du fibrinogène, du plasminogène et de la fibrinolyse. *Thèse de doctorat en pharmacie*, Paris, 1964.

104. Mullertz S. — Fibrinolytic activity of human blood after death. *Acta Physiol. Scand.*, 1952-1953, 27, 265.

105. Mullertz S., Lassen M. — An activator system in blood indispensable for formation of plasmin by streptokinase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, 82, 264.

106. Mullertz S. — A plasminogen activator in spontaneously active human blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, 82, 291.

107. Mullertz S. — Effect of carboxylic and amino acids on fibrinolysis produced by plasmin, plasminogen activator and proteases. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1954, 85, 326.

108. Mullertz S. — Formation and properties of the activator of plasminogen and of human and bovin plasmin. *Biochem. J.*, 1955, 61, 424.

109. Mullertz S. — Activation of plasminogen. *Ann. N.Y. Acad. Sc.*, 1957, 68, 38.

110. Naye R.L. — Thrombolytic disorders with increased levels of antiplasmin and antiplasminogen. *New Engl. J. Med.*, 1961, 265, 867.

111. Niewiarowski S., Kowalski E. — Un nouvel anticoagulant dérivé du fibrinogène. *Rev. Hémat.*, 1958, 13, 320.

112. Niewiarowski S. — Adsorption des facteurs du système fibrinolytique par la bentonite. *Path. Biol.*, 1959, 7, 2557.

113. Niewiarowski S., Prou-Wartelle O. — Rôle du facteur contact (Facteur Hageman) dans la fibrinolyse. *Thromb. Diath. Haem.*, 1959, 3, 593.

114. Nilsson I.M., Krook H., Sternby N.H., Söderberg E., Söderström N. — Severe thrombotic disease in a young man with bone marrow and skeletal changes and with a high content of an inhibitor in the fibrinolytic system. *Acta Med. Scand.*, 1961, 169, 323.

115. Norman P.S. — Studies of the plasmin system. I. Measurement of human and animal plasminogen. Measurement of an activator in human plasma. *J. Exp. Med.*, 1957, 106, 423.

116. Norman P.S., Hill B.M. — Physical properties of the two plasmin inhibitors in plasma. *J. Exp. Med.*, 1958, 108, 639.

117. Norman P.S. — Some aspects of the chemistry of plasmin and its inhibitors. *Amer. J. Cardiol.*, 1960, 6, 390.

118. Okamoto S., Okamoto U. — Amino-methyl-cyclohexane-carboxylic-acid. A new potent inhibitor of fibrinolysis. *Keio J. Med.*, 1962, 11, 105.

119. Ploug J., Kjeldgaard N.O. — Urokinase. An activator of plasminogen from human urine. I. Isolation and properties. *Biochim. Biophys. Acta*, 1957, 24, 278.

120. Poumeau-Delille G. — Le calcul statistique appliqué à la biologie (p. 161); dans : Techniques biologiques en endocrinologie expérimentale chez le rat. Masson et Cie Ed., Paris, 1953.

121. Prokopowicz J., Rejniak L., Niewiarowski S., Worowski K. — Fibrinolytic activity of tissue sections of the dog kidney. *Thromb. Diath. Haem.*, 1964, 12, 396.

122. Ratnoff O.D. — Studies on a proteolytic enzyme in human plasma. *J. Exp. Med.*, 1948, 87, 199.

123. Remmert L.F., Cohen P.P. — Partial purification and properties of proteolytic enzyme of a human serum. *J. Biol. Chem.*, 1949, 181, 431.

124. Robbins K.C., Summaria L. — Purification of human plasminogen and plasmin by gel filtration on sephadex and chromatography on diethyl-aminoethyl-sephadex. *J. Biol. Chem.*, 1963, 238, 952.

125. Roberts P.S. — Measurement of the rate of plasmin action on synthetic substrates. *J. Biol. Chem.*, 1958, 232, 285.

126. Salmon J., Lecomte J. — Kinogènes plasmatiques et fibrinolyse thérapeutique. *Rev. Fr. Et. Clin. Biol.*, 1963, 8, 476.

127. Samama M., Weiss M., Yver J., Marchal G., Dubost Ch. — Etude de la coagulation et de l'activité fibrinolytique au cours de la chirurgie à cœur ouvert. *Proc. 8th Cong. Soc. Europ. Hematol.,* Vienne, septembre 1961, n° 961.

128. Samama M., Yver J. — L'exploration biologique de la fibrinolyse. *Hémostase,* 1962, 2, 55.

129. Samama M., Abastado M., Prost R.J., Goglin G., Castel A., Bilski-Pasquier G., Soulié P., Marchal G. — Surveillance biologique du traitement thrombolytique. *Angéiologie,* 1963, 3, 25.

130. Samama M. — L'activité fibrinolytique induite par le nicotinate de théophylline. *II^e Congrès International d'Angéiologie,* Darmstadt, octobre 1963. Compte rendu du Congrès, p. 227.

131. Samama M. — La physiopathologie de la fibrinolyse et ses applications cliniques et thérapeutiques. *Transfusion,* 1964, 7, 99.

132. Samama M., Abastado M. — Thérapeutique thrombolytique. Essais cliniques de traitement par la streptokinase purifiée. *Soc. Méd. Hôp. Paris,* 1964, 115, 941.

133. Sandberg H., Tsitouris G., Bellet S., Schraeder J. — Experiences with inhibitors to the plasmin-plasminogen system in the human subject. Their modifications by thrombolysin therapy. *Am. J. Card.,* 1960, 6, 432.

134. Schwert G.W., Takenaka Y. — A spectrophotometric determination of trypsin and chymotrypsin. *Biochim. Biophys. Acta,* 1955, 16, 570.

135. Sgouris J.T., Inman J.K., MacCall K.B. — Starch gel and moving boundary electrophoresis of highly purified profibrinolysin. *Bioch. Biophys. Res. Comm.,* 1960, 2, 40.

136. Sharp A.A. — Pathological fibrinolysis. *Brit. Med. Bull.,* 1964, 20, 240.

137. Sherry S., Lindemeyer R.I., Fletcher A.P., Alkjaersig N. — Studies on enhanced fibrinolytic activity in man. *J. Clin. Invest.,* 1959, 38, 810.

138. Shulman S., Alkjaersig N., Sherry S. — Physicochemical studies on human plasminogen (profibrinolysin) and plasmin (fibrinolysin). *J. Biol. Chem.,* 1958, 233, 91.

139. Stafford J.L. — Fibrinolysis and intrinsic haemostasis. *Brit. Med. Bull.,* 1964, 20, 179.

140. Stefanini M., Dameshek W. — The hemorrhagic disorders : a clinical and therapeutic approach. Grune and Stratton, New-York, 1955.

141. Tagnon H.J. — The significance of fibrinolysis in the mecanism of coagulation of blood. *Science,* 1942, 95, 334.

142. Tagnon H.J., Peterman M.L. — A proplasmin activator from mammalian tissue. *J. Clin. Invest.,* 1949, 28, 814.

143. Tilett W.S., Garner R.L. — The fibrinolytic activity of hemolytic streptococci. *J. Exper. Med.*, 1933, 58, 485.

144. Todd A.S. — Fibrinolysis autographs. *Nature*, 1958, 181, 495.

145. Todd A.S. — Histological localization of fibrinolysin activator. *J. Path. Bact.*, 1959, 78, 281.

146. Todd A.S. — In : thrombosis and anticoagulant therapy. Walker W. Ed. Livingstone, Edinburg, 1961.

147. Todd A.S. — Localization of fibrinolytic activity in tissues. *Brit. Med. Bull.*, 1964, 20, 210.

148. Triantaphyllopoulos D.C. — Anticoagulant action of TAMe and AFIF. *Amer. J. Physiol.*, 1961, 200, 771.

149. Troll W., Sherry S., Wachman J. — The action of plasmin on synthetic substrates. *J. Biol. Chem.*, 1954, 208, 85.

150. Troll W., Sherry S. — The activation of human plasminogen by streptokinase. *J. Biol. Chem.*, 1955, 213, 881.

151. Tsapogas M.J., Flute P.T. — Experimental thrombolysis with streptokinase and urokinase. *Brit. Med. Bull.*, 1964, 20, 223.

152. Vairel E.G. — Etude de l'activité enzymatique d'un extrait protéique de placenta humain. Comparaison au plasminogène plasmatique. *Proc. 9th Congr. Int. Soc. Blood Transf.*, Mexico, 1962, p. 164 (1964).

153. Vairel E.G. — La fibrinolyse en chirurgie. *Presse Médicale*, 1963, 50, 2393.

154. Vairel E.G., Antoine G. — Aspect biochimique des fibrinolyses. *Ann. Anesth. Franç.*, 1963, 4 (spécial), 23.

155. Vairel E., Thely M. — Mesure de la résistance du plasma à la lyse. (Nouvelle technique de mesure des inhibiteurs d'activation du plasminogène.) *Hémostase*, 1963, 3, 271.

156. Vairel E. — Etude du rapport des inhibiteurs de la lyse au proactivateur en période post-opératoire. *Congrès International d'Angéiologie*, Paris, 1964. (*Angéiologie* à paraître.)

157. Vairel E.G. — A propos de l'activation et de l'inhibition de la fibrinolyse. *Ann. Anesth. Franç.*, 1964, 5 (numéro spécial).

158. Vaux Saint Cyr Ch. de. — Recherches sur les activités enzymatiques de la plasmine et de la streptokinase. *Biologie Médicale*, 1963, 52, 611.

159. Vidili F., Ferrara L. — L'attivita fibrinolitica del sangue nelle malattie tromboemboliche. *Minerva Cardioangiologica*, 1963, 11, 204.

160. Vries S.I. de, Braat van Straaten M.A.J., Müller E., Wettermark M. — Antiplasmin deficiency in polycythaemia : a form of thrombopathy. *Thromb. Diath. Haem.*, 1961, 6, 445.

161. Warren B.A. — Fibrinolytic properties of vascular endothelium. *Brit. J. Exp. Path.*, 1963, 44, 365.

162. Warren B.A. — Fibrinolytic activity of vascular endothelium. *Brit. Med. Bull.*, 1964, 20, 213.

163. Weiner M., Redish W., Steele J.M. — Occurence of fibrinolytic activity following administration of nicotinic acid. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1958, 98, 755.

TABLE DES MATIÈRES

Première partie

Rappel de la physiopathologie de la fibrinolyse et de son exploration

INTRODUCTION 15

Chapitre I : Le plasminogène 17
I. — *Principales propriétés* 17
II. — *Propriétés physiques du plasminogène purifié* 18
III. — *Propriétés chimiques* 18
IV. — *Rôle du plasminogène* 19

Chapitre II : La plasmine 21
I. — *Principales propriétés* 21
II. — *Propriétés physiques* 23
III. — *Propriétés chimiques* 23
IV. — *Rôle de la plasmine* 26

Chapitre III : L'activation du plasminogène 28
I. — *Les activateurs* 28
II. — *La réaction entre l'activateur et le plasminogène* 33
III. — *Lieu et mécanisme de libération de l'activateur du plasminogène* . 34
IV. — *Actions locales spécifiques de l'activateur du plasminogène* . . 34
V. — *Kinogènes plasmatiques et fibrinolyse thérapeutique* 35
VI. — *L'induction de la thrombolyse par un activateur* 35

Chapitre IV : L'inhibition du système fibrinolytique 37
I. — *L'inhibition de la plasmine* 38
II. — *Les inhibiteurs de l'activation du plasminogène* 42
III. — *Inhibition de la formation de l'activateur* 43

Chapitre V : Le déséquilibre du système fibrinolytique 44

Chapitre VI : Les fibrinolyses 49
I. — *Les fibrinolyses physiologiques* 49
II. — *Les fibrinolyses pathologiques* 50

Chapitre VII : Le diagnostic biologique de la fibrinolyse 54

Chapitre VIII : Le traitement 57

Deuxième partie

Le dosage du plasminogène

Chapitre I : Différentes techniques de dosage du plasminogène 63

Chapitre II : Dosage du plasminogène plasmatique par l'étude de la fibrinolyse en présence d'inhibiteur de Kunitz 66
I. — *Principe* 66
II. — *Prélèvement* 66
III. — *Réactifs* 67
IV. — *Mode opératoire* 68
V. — *Résultats* 70

Chapitre III : Mise au point des conditions techniques 73

Chapitre IV : Discussion 90

Chapitre V : Essai d'application de la méthode à l'évaluation des inhibiteurs plasmatiques 94

Troisième partie

Etude clinique

Chapitre I : Calcul statistique 101
1) *Calcul statistique appliqué aux cas normaux* 101
2) *Calcul statistique appliqué aux cirrhoses* 103
3) *Différence significative entre témoins et cirrhoses* 104

Chapitre II : Le dosage du plasminogène dans les cirrhoses du foie 105
I. — *Etude effectuée sur 70 cas de cirrhose hépatique* 105
II. — *Etude détaillée des éléments biologiques* 112
III. — *Mode d'expression des résultats fournis par les examens biologiques* 121
IV. — *Le plasminogène au cours des anastomoses porto-cave* 128

Conclusions générales 129

Bibliographie 131

Imprimerie R. Foulon & Cie, 29, rue Deparcieux, Paris XIV^e^